



吕小艳, 李斌强, 何诗远, 何小涛, 王野影. 贵州部分洞穴裸灶螽的鉴定及其遗传多样性分析 [J]. 环境昆虫学报, 2022, 44 (1): 106–117.

贵州部分洞穴裸灶螽的鉴定及其遗传多样性分析

吕小艳^{1,2}, 李斌强^{1,2}, 何诗远¹, 何小涛¹, 王野影^{1,2*}

(1. 贵州师范大学生命科学学院, 贵阳 550025; 2. 贵州师范大学国家林业局西南喀斯特山地生物多样性保护重点实验室, 贵阳 550025)

摘要: 贵州是中国具有丰富喀斯特洞穴生态系统的省份之一, 裸灶螽作为洞穴中的优势物种又为生态环境指示种, 其遗传多样性能够反应洞穴生物多样性。为评估洞穴开发对洞穴生物多样性的影响, 本研究通过形态鉴定和分子辅助鉴定的方式对来自贵州省毕节、黔西南、铜仁和黔南 4 个地区 8 个洞穴 97 号裸灶螽标本进行鉴定, 并对其遗传多样性进行分析。结果共鉴定出裸灶螽亚属 *Tachycines* (*Gymnaeta*) 的 8 个种和 3 个形态鉴定模棱两可的待定种, 包括此次在贵州首次报道的伪裸灶螽 *Tachycines* (*Gymnaeta*) *fallax* 和洞穴裸灶螽 *Tachycines* (*Gymnaeta*) *cavernus*; 通过使用线粒体 *COI* 基因构建裸灶螽亚属的系统发育树, 对待定种进行了辅助鉴定, 认为洞穴裸灶螽 *Tachycines* (*Gymnaeta*) *cavernus*、实心裸灶螽 *Tachycines* (*Gymnaeta*) *solidus* 和波氏裸灶螽 *Tachycines* (*Gymnaeta*) *borutzkyi* 之间可能存在复合种; 洞穴空间小和相对湿度低或人为活动干扰和洞穴开发情况严重会减少裸灶螽的数量和降低其遗传多样性。因此, 建议对洞穴空间较大, 物种较丰富的洞穴建立洞穴物种基因库, 做到科学开发旅游资源, 力争向生态科技旅游推进。

关键词: 贵州; 喀斯特洞穴; 裸灶螽亚属; 物种鉴定; 物种遗传多样性; 洞穴保护

中图分类号: Q968.1; S433

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2022) 01-0106-12

Identification and genetic diversity analysis of *Tachycines* (*Gymnaeta*) in some caves of Guizhou Province

LV Xiao-Yan^{1,2}, LI Bin-Qiang^{1,2}, HE Shi-Yuan¹, HE Xiao-Tao¹, WANG Ye-Ying^{1,2*} (1. School of Life Science, Guizhou Normal University, Guiyang 550025, China; 2. Key Laboratory of Southwest Karst Mountain Biodiversity Conservation, State Forestry Administration of China, Guizhou Normal University, Guiyang 550025, China)

Abstract: Guizhou Province is one of the provinces with rich karst cave ecosystem in China. As indicator species of ecological environment, the species of Rhabdiphoridae are dominant cave insects. As the dominant species in the cave and the indicator species of ecological environment, the genetic diversity of *Gymnaeta* can reflect the biodiversity of caves. In order to evaluate the impact of cave development on the biodiversity of cave, the present study identified 97 specimens of *Tachycines* (*Gymnaeta*) from eight caves in Bijie, Qianxinan, Tongren and Qiannan by morphological identification and molecular assisted identification, and analyzed their genetic diversity. Eight species of *Tachycines* (*Gymnaeta*) and three undetermined species with ambiguous morphological identification were identified, including *Tachycines* (*Gymnaeta*) *fallax* and *Tachycines* (*Gymnaeta*) *cavernus*, which were first reported in Guizhou. By using mitochondrial *COI* gene to construct the phylogenetic tree of *Tachycines* (*Gymnaeta*), the indeterminate

基金项目: 贵州师范大学研究生创新基金 [YC (2018) 020]; 国家自然科学基金委员会-贵州省人民政府喀斯特科学研究中心项目 (U1812401); 贵州师范大学博士科研启动项目 (11904/0516008)

作者简介: 吕小艳, 女, 贵州铜仁人, 硕士研究生, 主要研究方向为野生动物保护, E-mail: lvxiaoyw@163.com

* 通讯作者 Author for correspondence: 王野影, 女, 博士, 副教授, 研究方向为野生动物保护, E-mail: wangyeying0818@163.com

收稿日期 Received: 2020-10-17; 接受日期 Accepted: 2021-01-13

species were identified. It is suggested that there may be complex species among *Tachycines* (*Gymnaeta*) *cavernus*, *Tachycines* (*Gymnaeta*) *solidus* and *Tachycines* (*Gymnaeta*) *borutzkyi*. Small cave space and low relative humidity, human disturbance and serious cave development will reduce the population and genetic diversity of *Tachycines* (*Gymnaeta*). Therefore, it is suggested to establish cave species gene bank for caves with large cave space and rich species, so as to develop tourism resources scientifically and promote ecological science and technology tourism.

Key words: Guizhou; karst cave; *Tachycines* (*Gymnaeta*); species identification; species genetic diversity; cave protection

贵州省拥有丰富的喀斯特生态系统, 故而形成众多的喀斯特洞穴地貌类型。洞穴有别于地表, 是一个相对封闭的生态环境 (王剑等, 2000), 因此, 有着数量庞大的节肢类动物生活在洞穴中。近年来, 有大量关于贵州不同喀斯特地区洞穴动物的群落结构的研究 (杨卫诚等, 2013; 梁盛等, 2015; 张广等, 2015; 温清, 2017), 也有针对洞穴贝类、鱼类、以及蜘蛛类动物进行的新种描述 (黎道洪等, 2003b; 陈会明等, 2008; 郭轩等, 2016; 杨自忠等, 2018; 周江, 2019), 还有针对螺类的多样性研究 (黎道洪等, 2003a)。昆虫在多数大陆和淡水生态系统中有着很高的多样性和丰富度, 其对环境变化具有高度敏感性, 故而成为保护和检测研究的模式生物以及生物多样性研究中的指示器, 如蚂蚁被用作研究栖息地干扰程度的生物指示物种 (Wallace *et al.*, 1998; 王野影, 2015)。驼螽科 Rhabdiphoridae 在世界范围内广泛分布, 包含了大量的洞穴适应物种和少量的地表栖息物种 (Allegrucci *et al.*, 2005)。洞穴灶螽是很多洞穴内的优势类群, 是研究自然选择、进化发展生物学、适应性进化和生态环境评估的理想材料。

裸灶螽亚属 *Tachycines* (*Gymnaeta*) 隶属于直翅目 Orthoptera 驼螽科 Rhabdiphoridae 疾灶螽属 *Tachycines*, 俄罗斯学者 Adelung 在研究古北界的沙螽时, 建立了疾灶螽属 *Tachycines* 和裸灶螽亚属 *Gymnaeta*, 1992 年以前, 很多学者一直采用将裸灶螽亚属 (Adelung, 1902) 归属于疾灶螽属的分类系统 (Karny, 1934), 1992 年以后, Gorochov 将裸灶螽亚属从疾灶螽属转至芒灶螽属 *Diestrammena*, 并将疾灶螽属认定为芒灶螽属的一个亚属 (Gorochov, 1992; 1998)。在 2018 年的修订中, 疾灶螽属被重新提升到属水平, 并将裸灶螽亚属重新归属于疾灶螽属, 同时, 将两个亚种 *Tachycines* (*Gymnaeta*) *ferecaeca* Gorochov, Rampini

& Di Russo, 2006 和 *Tachycines* (*Gymnaeta*) *ferecaeca proxima* Gorochov, Rampini & Di Russo, 2006 提升为种水平, 将栗色裸灶螽 *Tachycines* (*Gymnaeta*) *aspes* Rampini & Di Russo, 2008 异名为近裸灶螽 *Tachycines* (*Gymnaeta*) *proxima* (Qin *et al.*, 2018)。到 2009 年, 全世界报道裸灶螽亚属物种共 18 种, 有 16 种 (包括亚种) 来自中国 (Zhang & Liu, 2009), 其中在贵州分布有 5 个种和 1 个亚种 (Gorochov *et al.*, 2006; Rampini *et al.*, 2008)。截止到目前, 共报道疾灶螽属物种共 66 种, 其中裸灶螽亚属共包含 46 种 (Zhu *et al.*, 2020), 贵州分布裸灶螽亚属物种 19 种。2018 年以来, 贵州陆续报道疾灶螽属新种高达 12 种 (Qin *et al.*, 2018; Qin *et al.*, 2019; Huang *et al.*, 2019; Feng *et al.*, 2019; Feng *et al.*, 2020; Zhu *et al.*, 2020), 充分说明了贵州喀斯特洞穴疾灶螽属物种多样性丰富。随着分子系统学被广泛用于探究系统发育关系、种群历史等各个方面的研究 (Yang & Rannala, 2012), 部分研究者针对驼螽科物种的系统发育关系开展了分子系统学研究 (Valerio *et al.*, 2013; 秦艳艳, 2020), 但都是从科水平开展的研究, 而对于贵州广泛分布的裸灶螽亚属而言, 尚未开展遗传多样性研究, 缺乏分子方面的数据。

近些年来, 随着旅游业的发展, 喀斯特洞穴逐渐成为景观旅游开发的对象, 原本处于相对稳定和相对封闭状态的洞穴, 在被开发后增加了灯光照明和人为活动干扰, 从而对洞穴动物造成一定的影响 (邓亚东等, 2011)。本研究拟通过传统分类方法和分子分类方法相结合, 对贵州省部分地区喀斯特洞穴裸灶螽进行物种鉴定, 探讨该物种在贵州喀斯特洞穴的分布情况, 对洞穴生物进行准确鉴定, 有利于增强人们对洞穴生物的认识, 在部分濒危物种未灭绝前给予保护。通过构建裸灶螽物种的系统进化树, 探讨种间亲缘关系, 为

后续物种形态鉴定和分类提供参考依据; 通过对裸灶蠹物种的遗传多样性分析, 揭示人为活动干扰和洞穴开发情况对这类生物指示种的影响, 从而为洞穴的保护和合理开发提供建议。因此, 本研究在喀斯特区洞穴生物物种分类鉴定、分子进化、分子系统学及谱系地理学等方面均具有重要的实践价值和理论意义。

1 材料与方法

1.1 研究对象

2017–2019 年间, 从贵州省 4 个地区的 8 个喀斯特洞穴 (黔西南州万峰林邱家洞、熊洞和白龙洞, 毕节市大方县关牛洞、摩天大洞和黔西县水牛洞, 黔南州长顺县磨谢村菜地洞, 铜仁市德江县龙桥村大洞) 洞内随机采集裸灶蠹共 97 号标本, 将其浸泡于无水乙醇中保存于贵州师范大学生命科学学院重点实验室, 详细信息见表 1。

1.2 标本形态鉴定

对裸灶蠹进行形态鉴定, 具体方法参照秦艳艳等的研究 (Qin *et al.*, 2019; 秦艳艳, 2020; Zhu *et al.*, 2020)。以生殖器为主要鉴定特征, 借助复眼是否有退化, 单眼是否缺失或分离, 后足胫节背面刺数作为辅助鉴定特征。首先, 将浸泡在无水乙醇中的标本进行回软。然后, 在解剖镜下, 将回软虫体的腹部末端用解剖针打开, 将生殖器与腹部的膜质结构切断, 轻轻拉出生殖器, 利用解剖镜观察雄性生殖器, 雌性标本直接在解剖镜下观察下生殖板。最后, 对生殖器进行拍照和特征描绘。

将拍得的标本生殖器照片与裸灶蠹亚属的模式种 *Gymnaeta berezowskii* (Adelung, 1902a; Adelung, 1902b) 进行生殖器比对, 其中主要参照卓氏裸灶蠹 *Tachycines (Gymnaeta) zorzini* (Rampini *et al.*, 2008; 张丰, 2010; Qin *et al.*, 2019; Zhu *et al.*, 2020)、拉林裸灶蠹 *Tachycines (Gymnaeta) solidus* (Feng *et al.*, 2019; 秦艳艳, 2020)、实心裸灶蠹 *Tachycines (Gymnaeta) solidus* (Gorochov *et al.*, 2006; 温清, 2018; Qin *et al.*, 2019; 秦艳艳, 2020)、洞穴裸灶蠹 *Tachycines (Gymnaeta) cavernus* (Jaio *et al.*, 2008; Zhang & Liu, 2009; Qin *et al.*, 2019; 秦艳艳, 2020)、波氏裸灶蠹 *Tachycines (Gymnaeta) borutzkyi* (Gorochov & Kireichuk, 1994; 张丰, 2010; Qin *et al.*, 2019; 秦

艳艳, 2020)、伪裸灶蠹 *Tachycines (Gymnaeta) fallax* (Zhang & Liu, 2009; Qin *et al.*, 2019; 秦艳艳, 2020)、陈氏裸灶蠹 *Tachycines (Gymnaeta) chenhui* (Rampini *et al.*, 2008; Qin *et al.*, 2019; 秦艳艳, 2020) 和拉脱裸灶蠹 *Tachycines (Gymnaeta) latellai* (Rampini *et al.*, 2008; Qin *et al.*, 2019; 秦艳艳, 2020) 的生殖器特征及形态特征进行分类和鉴别。

1.3 标本分子鉴定

1.3.1 DNA 提取

取裸灶蠹标本的后足股节, 采用盐析法进行 DNA 的提取 (马婷婷, 2011), 使用分光光度计检测 DNA 提取纯度 (OD 值: 1.8 ~ 2.0) 和浓度, DNA 溶液于 -20℃ 冰箱保存待用。

1.3.2 PCR 扩增及测序

利用由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成的 *COI* 基因序列通用引物 Lco1490 和 Hco2198 (Folme *et al.*, 1994) 进行 PCR 扩增, 普通 PCR 反应体系为: Taq PCR Master Mix (2X, blue dye) 12.5 μL, 上下游引物各 1 μL (10 μM), DNA 模板 1 μL (10 ~ 100 ng/μL), 加 ddH₂O 至 25 μL。采用 95℃ 预变性 3 min, 95℃ 变性 30 s, 40℃ 复性 30 s, 72℃ 延伸 1 min, 重复 36 个循环, 72℃ 再延伸 8 min 程序进行扩增。利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 结果, 把具有目标条带的 PCR 扩增产物直接送至生工生物工程 (上海) 股份有限公司进行单向测序。

1.3.3 测序数据处理与分析

首先将测序所得峰图文件使用 BioEdit v7.0.5 软件 (Hall, 1999) 进行检验, 其序列用 NCBI 数据库 (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 进行 Blast 同源相似性比对, 初步判断该序列的来源物种。将均为单峰的序列结合从 GenBank 数据库中下载的 *Diestrammena* sp. 和疾灶蠹属的 *COI* 序列 (表 2), 全部整理到同一个 txt 文件中, 利用 BioEdit v7.0.5 将 txt 文件中所有序列两端比对对齐并保存为 Fasta 文件。然后利用 MEGA 7.0 软件 (Kumar *et al.*, 2016) 以驼蠹科的 *Ceuthophilus gracilipes*、*Hadenococcus cumberlandicus* 和 *Euhadenococcus insolitus* 3 个物种 (焦忠久, 2010) 作为外群, 采用邻接法 (NJ), 选择 Bootstrap method, 其他默认设置, 1 000 次重复构建系统发育树。贝叶斯系统发育分析采用 MrBayes 3.2.1 软件 (Fredrik *et al.*, 2012), 利用 MCMC 方法, 选

表 1 样品采集信息及洞穴描述
Table 1 Sample source and cave description

洞穴名称 Cave's name	海拔、经纬度 Altitude, longitude and latitude	洞穴环境简述 Cave environment	标本采集数 Number of samples collected
菜地洞 CDD	海拔: 1 252 m 经纬度: N: 26. 031123 E: 106. 412335	洞穴位于公路上方的半山腰, 基本无人活动。洞口宽约 1.2 m, 高约 2.3 m, 洞形仅一个主洞无分支, 斜向上延伸, 洞长约 5~6 m, 洞口上下方植物主要是乔木和草本。洞内空气较干燥, 相对湿度约为 35%, 有蜘蛛、芒灶螽等洞穴物种。	8
大洞 DD	海拔: 471 m 经纬度: N: 28. 218420 E: 108. 276036	位于乡村公路旁, 洞口有大量草本植物, 洞口宽约 3.5 m, 高约 2.8 m, 洞口有农民堆放农作物秸秆, 洞穴水平延伸约 35 m, 无分支。洞内地面潮湿, 整体相对湿度约为 90%, 有蜘蛛、蜈蚣、蛾和芒灶螽等洞穴物种。	25
摩天大洞 MTDD	海拔: 1 285 m 经纬度: N: 27. 243146 E: 106. 066625	位于山谷半山腰, 洞口陡峭, 中间为深度不详的暗河, 洞穴被暗河分为左右两部分, 有严重的开采痕迹, 洞穴长度和深度不详。洞口水平延伸 25 m 处相对湿度为 45%, 有蜘蛛、蛾、芒灶螽等洞穴物种, 有丰富的乔木和草本植物。	10
关牛洞 GND	海拔: 1 283 m 经纬度: N: 27. 243854 E: 106. 066440	位于山谷半山腰, 有两个洞口为山路的入口和出口, 洞穴斜向上再水平延伸, 被开采为三个大厅, 最里面一个大厅相对湿度约为 70%, 洞深不详, 有少量蛾、蜘蛛、马陆、芒灶螽和蝙蝠栖息。在洞口入口处有一个小分支, 相对湿度为约 75%, 灶马主要栖息在潮湿的石壁上。	13
水牛洞 SND	海拔: 1 428 m 经纬度: N: 27. 207656 E: 106. 068320	洞穴位于农民土地旁, 有人为活动和严重的采掘痕迹。洞口宽约 3.2 m, 高约 2.5 m, 洞穴先斜向下约 30 m; 然后水平延伸约 15 m, 该段为光线明亮的大厅; 再斜向上延伸约 40 m, 该段为黑暗带。洞口有丰富的乔木和草本植物, 大厅有苔藓和草本植物, 中间有一个小水塘, 黑暗带空气较潮湿, 相对湿度约为 65%。洞穴内有马陆、芒灶螽、蜘蛛等洞穴动物。	9
邱家洞 QJD	海拔: 1 026 m 经纬度: N: 24. 574263 E: 104. 554129	洞穴位于山谷河流旁, 基本无人活动, 洞穴深度和洞形不详, 洞穴周边主要为乔木和草本植物, 洞内相对湿度为 87%, 有马陆、芒灶螽、蜘蛛等洞穴物种。	7
熊洞 XD	海拔: 1 284 m 经纬度: N: 24. 574000 E: 104. 561800	洞穴位于山腰, 基本无人活动, 洞穴深度和洞形不详, 洞穴周边有大量乔木和草本植物, 洞内地面和墙壁较为潮湿, 其相对湿度为 80%, 有马陆、芒灶螽、蜘蛛和蝙蝠等洞穴物种。	16
白龙洞 BLD	海拔: 1 137 m 经纬度: N: 24. 952187 E: 104. 934455	洞穴位于房屋后面, 洞口宽约 1.8 m, 高约 2.2 m, 洞形仅一个主洞无分支, 洞口多为草本植物, 人为活动基本在洞口处。洞内相对湿度为 85%, 有马陆、芒灶螽、蜘蛛等洞穴物种。	9

择 GTR 模型, 以 *Ceuthophilus gracilipes* 为外群共运行 300 万代, 直至两个独立分析的相似度小于 0.01, 结束运算, 使用 Figtree v1.4.3 软件 (Rambaut & Drummond, 2012) 进行进化树的编辑和查看。Adobe Illustrator CS4 进行进化树的美化。

利用 MEGA 7.0 软件采用 p - 距离法, bootstrap 评估变异, 重复 1 000 次, 对 97 号裸灶蠹标本种间遗传距离进行分析; 使用 DnaSPv6 软件 (Rozas *et al.*, 2017) 对已鉴定的物种进行 COI 基因的变异位点 (Variable sites), 简约信息位点 (Parsimony informative sites)、单倍型 H 及单倍型多样性 Hd 和核酸多样性 Pi 的分析。

表 2 芒灶蠹属、庭疾灶蠹及外群 COI 序列 GenBank 检索号
Table 2 Index number of GenBank of COI sequence of the *Diestrammena*, *Tachycines asynamora* and its outer group

种 Species	登录号 Accession number	序列来源 Sources of sequences
<i>Diestrammena</i> sp.	MF441178	未发表 Unpublished
<i>Diestrammena</i> sp.	MF441179	未发表 Unpublished
<i>Diestrammena</i> sp.	MF441180	未发表 Unpublished
<i>Diestrammena</i> sp.	MF441176	未发表 Unpublished
<i>Diestrammena</i> sp.	MF441182	未发表 Unpublished
<i>Diestrammena</i> sp.	MF441181	未发表 Unpublished
<i>Diestrammena</i> sp.	MF441177	未发表 Unpublished
<i>Tachycines asynamora</i>	KX057726	Zhou <i>et al.</i> , 2017
<i>Ceuthophilus gracilipes</i>	KU376838	Weckstein <i>et al.</i> , 2016
<i>Hadenocercus cumberlandicus</i>	AY793592	
<i>Euhadenocercus insolitus</i>	AY793591	Allegrucci <i>et al.</i> , 2005

2 结果与分析

2.1 裸灶蠹形态鉴定

通过对 97 号裸灶蠹标本生殖器及形态特征进行鉴定, 获得卓氏裸灶蠹 (图 1-a, 图 1-b)、拉林裸灶蠹 (图 1-c, 图 1-d)、洞穴裸灶蠹 (图 1-e)、实心裸灶蠹 (图 1-f)、波氏裸灶蠹 (图 1-g, 图 1-h)、伪裸灶蠹 (图 1-i, 图 1-j)、陈氏裸灶蠹 (图 1-k, 图 1-l) 和拉脱裸灶蠹 (图 1-m, 图 1-n) 共 8 个种, 均属于驼蚤科疾灶蠹属裸灶蠹亚属, 由于有的裸灶蠹标本为若虫, 生殖器未发育成型, 或

同种标本数量较少只有一个雌性标本, 无法通过形态鉴定到具体物种, 在本研究中统称为待定种 (表 3)。由表 3 可知, 来自不同地区的洞穴裸灶蠹物种, 其种类各不相同, 黔南地区 8 号标本鉴定为拉脱裸灶蠹和 2 个待定种; 铜仁地区 25 号标本鉴定为拉林裸灶蠹、洞穴裸灶蠹、实心裸灶蠹和波氏裸灶蠹 4 个种, 以及 1 个待定种; 毕节地区 32 号标本鉴定结果全为卓氏裸灶蠹; 黔西南地区 32 号标本鉴定为伪裸灶蠹、陈氏裸灶蠹和一个待定种。由邱家洞 (QJD) 7 号标本共鉴定出 3 个种, 而熊洞 (XD) 16 号标本共鉴定出 2 个种, 说明裸灶蠹标本数与物种数不存在相关性。

2.2 分子系统发育分析

DNA 提取纯度在 260/280 波长下, OD 值均处于 1.8~2.0 之间, PCR 产物条带大小在 650 bp 左右, 其测序结果序列在 NCBI 中与庭疾灶蠹 *Tachycines asynamora* 的同源性相似比均大于 87%, 表明测序结果可信, 序列可用于后续分析。

在分子系统发育进化树上 (图 2), 97 条 COI 序列分为 Clade A、Clade B、Clade C、Clade D、Clade E 和一个待定种 *Tachycines (Gymnaeta)* sp4. 6 个支系, 除 Clade B 分支上 NJ 支持率为 90% 外, 其余分支 NJ 支持率均大于 95%, BI 后验率为均大于 0.98, 说明各分支具有很高的可信度。根据形态鉴定结果的标本序号对应, Clade A 包括卓氏裸灶蠹和拉林裸灶蠹 2 个种; Clade B 包括 3 个待定种 *Tachycines (Gymnaeta)* sp1.、*Tachycines (Gymnaeta)* sp2. 和 *Tachycines (Gymnaeta)* sp3. 以及洞穴裸灶蠹、实心裸灶蠹和波氏裸灶蠹 3 个种; Clade C 包括伪裸灶蠹 1 个种; Clade D 包括陈氏裸灶蠹 1 个种; Clade E 包括拉脱裸灶蠹 1 个种。

从进化树上可知, 卓氏裸灶蠹和拉林裸灶蠹聚为一支, 然后再与洞穴裸灶蠹、实心裸灶蠹和波氏裸灶蠹聚在一起, 且 BI 后验率为 1。*Tachycines (Gymnaeta)* sp3. 与洞穴裸灶蠹聚在一起, 且 BI 后验率为 0.98, 说明 *Tachycines (Gymnaeta)* sp3. 也为洞穴裸灶蠹。Clade B 支系上有很多小分支, 已知标本的体色均为体黄 (深) 褐色, 杂有暗 (黄) 褐色条纹, 且雌性下生殖板均近三角形, 雄性外生殖器背骨片均近“H”形, 因此, 推测该支系可能存在复合种。同时, 从 GenBank 中下载的已知 *Diestrammena* sp. 序列, 在进化树上位于已知庭疾灶蠹 *Tachycines asynamora* 序列的内侧, 推测所下载的 GenBank 中 *Diestrammena* sp. 序列可能属于疾灶蠹属 *Tachycines*。

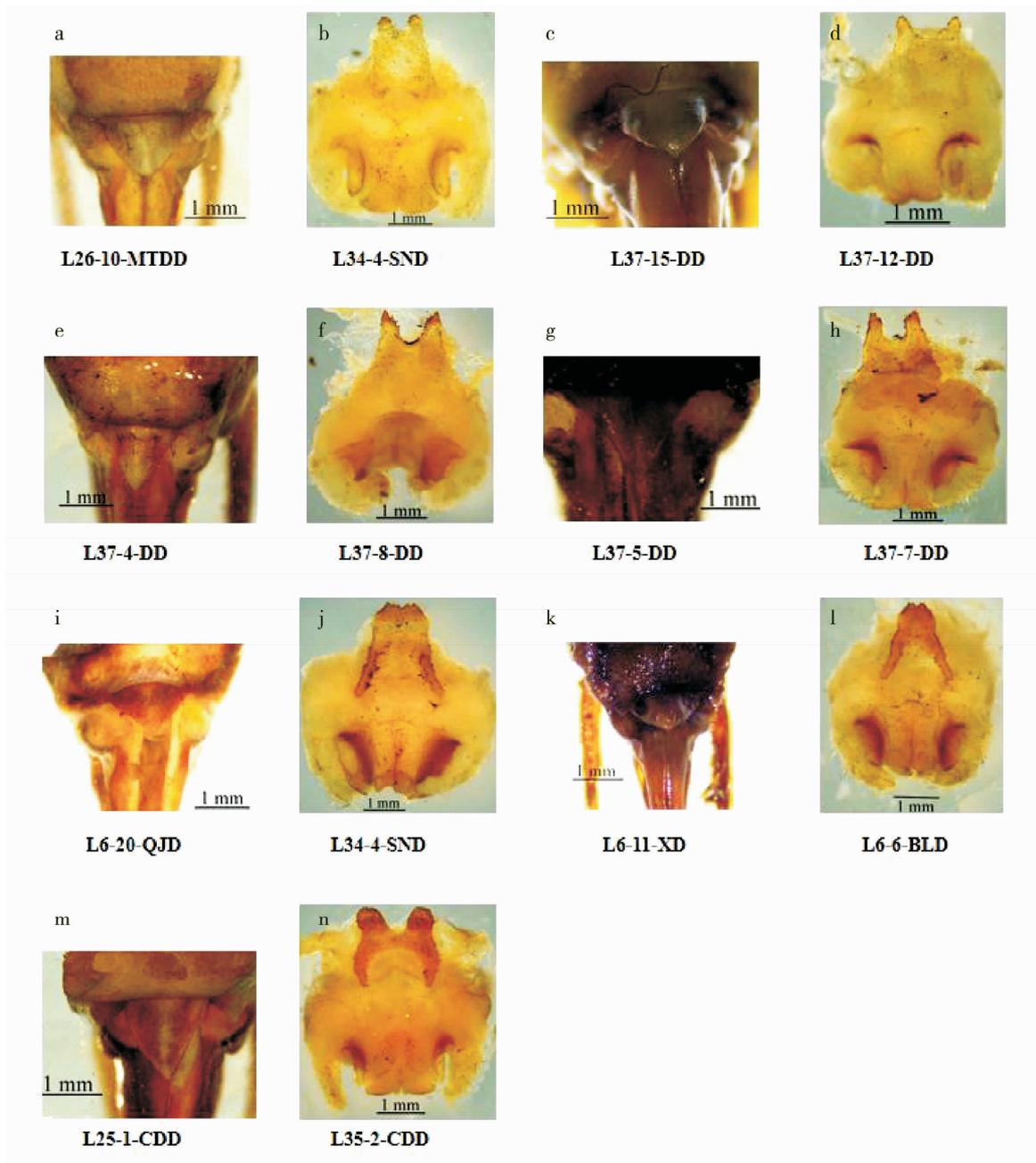


图 1 裸灶蠹亚属形态鉴定图

Fig. 1 Morphological identification of *Tachycines* (*Gymnaeta*)

注: 卓氏裸灶蠹: a, 雌性下生殖板腹面观; b, 雄性生殖器背面观; 拉林裸灶蠹: c, 雌性下生殖板腹面观; d, 雄性生殖器背面观; 实心裸灶蠹: e, 雌性下生殖板腹面观; 洞穴裸灶蠹: f, 雄性生殖器背面观; 波氏裸灶蠹: g, 雌性下生殖板腹面观; h, 雄性生殖器背面观; 伪裸灶蠹: i, 雌性下生殖板腹面观; j, 雄性生殖器背面观; 陈氏裸灶蠹: k, 雌性下生殖板腹面观; l, 雄性生殖器背面观; 拉脱裸灶蠹: m, 雌性下生殖板腹面观; n, 雄性生殖器背面观。
 Note: *Tachycines* (*Gymnaeta*) *zorzeni*: a, Female subgenital plate, ventral view; b, Male genitalia, dorsal view; *Tachycines* (*Gymnaeta*) *lalinus*: c, Female subgenital plate, ventral view; d, Male genitalia, dorsal view; *Tachycines* (*Gymnaeta*) *solidus*: e, Female subgenital plate, ventral view; *Tachycines* (*Gymnaeta*) *cavernus*: f, Male genitalia, dorsal view; *Tachycines* (*Gymnaeta*) *borutzkyi*: g, Female subgenital plate, ventral view; h, Male genitalia, dorsal view; *Tachycines* (*Gymnaeta*) *fallax*: i, Female subgenital plate, ventral view; j, Male genitalia, dorsal view; *Tachycines* (*Gymnaeta*) *chenhui*: k, Female subgenital plate, ventral view; l, Male genitalia, dorsal view; *Tachycines* (*Gymnaeta*) *latellai*: m, Female subgenital plate, ventral view; n, Male genitalia, dorsal view.

表 3 各洞穴中裸灶蠹亚属物种数统计表
Table 3 Statistics of *Tachycines* (*Gymnaeta*) in different caves

洞穴名称 Cave's name	标本数 Samples	物种数 Spices	种名 Species
菜地洞 (CDD)	8	3	拉脱裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>latellai</i>
			待定种 1 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) sp1.
			待定种 2 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) sp2.
大洞 (DD)	25	5	拉林裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>lalinus</i>
			洞穴裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>cavernus</i>
			实心裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>solidus</i>
			待定种 3 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) sp3.
			波氏裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>borutzkyi</i>
摩天大洞 (MTDD)	10	1	卓氏裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>zorzini</i>
关牛洞 (GND)	13	1	卓氏裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>zorzini</i>
水牛洞 (SND)	9	1	卓氏裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>zorzini</i>
邱家洞 (QJD)	7	3	伪裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>fallax</i>
			陈氏裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>chenhui</i>
			待定种 4 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) sp4.
熊洞 (XD)	16	2	伪裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>allax</i>
			陈氏裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>chenhui</i>
白龙洞 (BLD)	9	2	伪裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>fallax</i>
			陈氏裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>chenhui</i>

2.3 种间遗传距离分析

MEGA 7.0 软件遗传距离数据输出为左下三角和右上三角两个矩阵, 左下三角表示遗传距离, 右上三角表示遗传分化系数。在 2.2 分析中得出 *Tachycines* (*Gymnaeta*) sp3. 同为洞穴裸灶蠹, 因此, 将二者合为洞穴裸灶蠹进行分析。由表 4 可知, 裸灶蠹亚属的种间遗传距离在 0.0055 至 0.1366 之间变化, 其中最大遗传距离 0.1366 为 *Tachycines* (*Gymnaeta*) sp2. 与 *Tachycines* (*Gymnaeta*) sp4. 之间, 最小遗传距离 0.0055 为洞穴裸灶蠹与实心裸灶蠹之间。除此, 洞穴裸灶蠹与波氏裸灶蠹之间的距离, 以及波氏裸灶蠹与实心裸灶蠹之间的遗传距离也很小, 均为 0.0078。因此, 洞穴裸灶蠹、波氏裸灶蠹和实心裸灶蠹之间的种间遗传距离最小, 亲缘关系最近。

2.4 遗传多样性分析

从物种遗传多样性指数统计表 (表 5) 中可看

出, 同一洞穴中物种遗传多样性为: 大洞中波氏裸灶蠹和洞穴裸灶蠹的遗传多样性最高; 菜地洞中 *Tachycines* (*Gymnaeta*) sp2. 的遗传多样性最高; 白龙洞和熊洞中伪裸灶蠹的遗传多样性最高; 邱家洞中陈氏裸灶蠹的遗传多样性最高。不同洞穴同一物种遗传多样性为: 伪裸灶蠹和陈氏裸灶蠹在邱家洞中遗传多样性最高, 在熊洞中遗传多样性最低; 卓氏裸灶蠹在水牛洞中遗传多样性最低。

所有物种遗传多样性由高至低分别为: 陈氏裸灶蠹、波氏裸灶蠹、洞穴裸灶蠹、卓氏裸灶蠹、伪裸灶蠹、拉林裸灶蠹、实心裸灶蠹和拉脱裸灶蠹。其中, 实心裸灶蠹和拉脱裸灶蠹的单倍型均为 1, 其变异位点、单倍型多样性和核酸多样性均为零, 除标本数量较少外, 还可能存在所采集的标本均来自相同的亲本的情况。

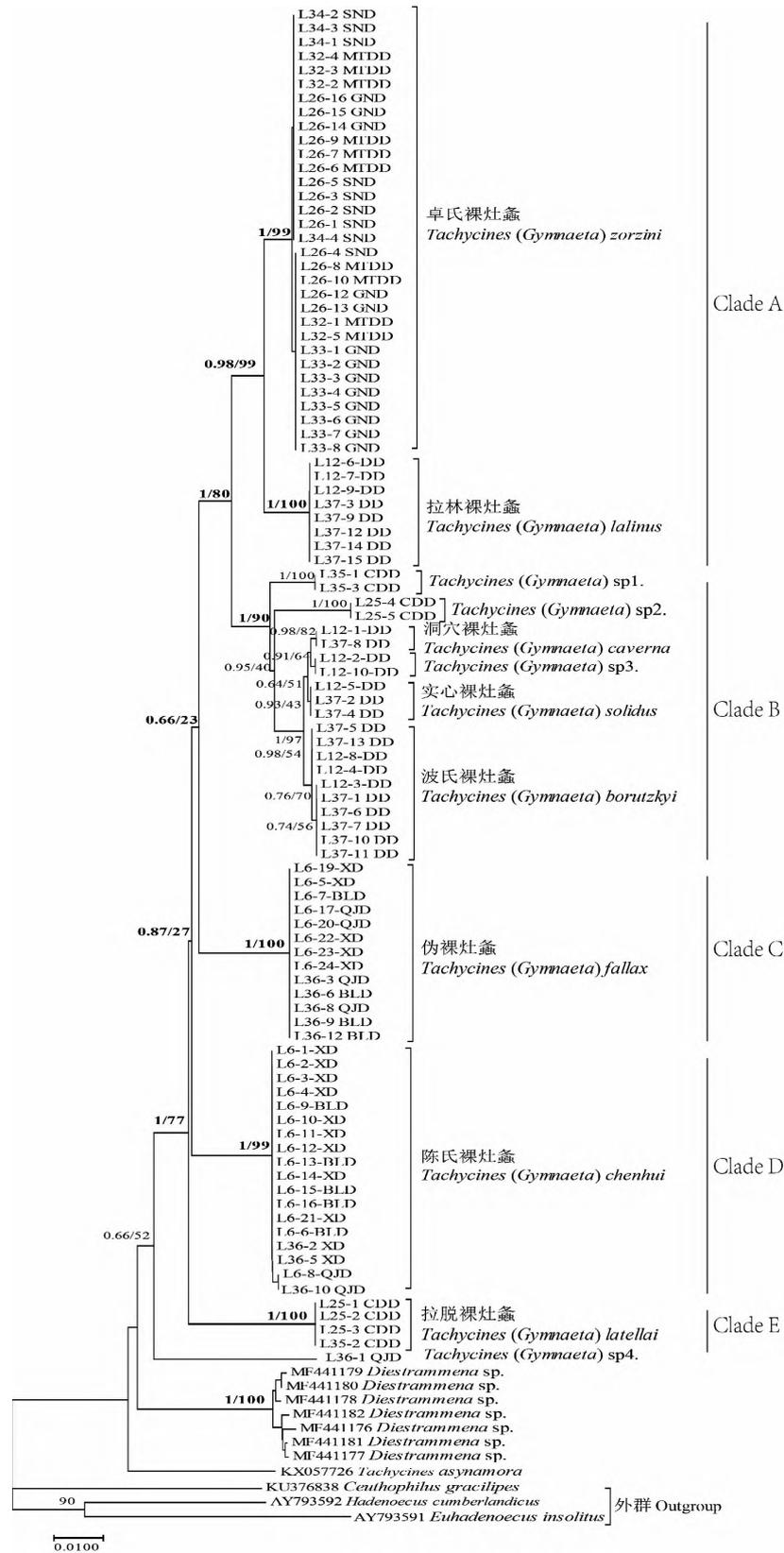


图2 基于 106 条 COI 序列的系统发育进化树

Fig. 2 Phylogenetic tree based on 106 COI sequences

注: 树枝上的数字代表分支的后验概率 BI/NJ。Note: The number on the branch represents the posterior probability of the branch BI/NJ.

表 4 裸灶蠹亚属的种间遗传距离
Table 4 Genetic distance between species of *Tachycines* (*Gymnaeta*)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1		0.0106	0.0104	0.0103	0.0105	0.0108	0.0107	0.0110	0.0110	0.0106	0.0121
2	0.0762		0.0107	0.0113	0.0111	0.0112	0.0109	0.0114	0.0117	0.0116	0.0122
3	0.0875	0.0830		0.0030	0.0025	0.0100	0.0098	0.0107	0.0085	0.0079	0.0131
4	0.0876	0.0888	0.0078		0.0033	0.0101	0.0098	0.0108	0.0088	0.0078	0.0131
5	0.0867	0.0870	0.0055	0.0078		0.0101	0.0099	0.0107	0.0089	0.0079	0.0133
6	0.0853	0.0887	0.0732	0.0727	0.0740		0.0071	0.0107	0.0102	0.0097	0.0121
7	0.0875	0.0842	0.0719	0.0714	0.0727	0.0414		0.0111	0.0104	0.0093	0.0118
8	0.0898	0.0917	0.0887	0.0898	0.0848	0.0897	0.1009		0.0116	0.0105	0.0128
9	0.1016	0.0956	0.0510	0.0549	0.0549	0.0810	0.0781	0.1013		0.0084	0.0132
10	0.0909	0.0911	0.0432	0.0408	0.0424	0.0724	0.0704	0.0879	0.0542		0.0131
11	0.1192	0.1112	0.1327	0.1344	0.1334	0.1226	0.1135	0.1303	0.1366	0.1287	

注: 1, 伪裸灶蠹; 2, 陈氏裸灶蠹; 3, 洞穴裸灶蠹; 4, 波氏裸灶蠹; 5, 实心裸灶蠹; 6, 拉林裸灶蠹; 7, 卓氏裸灶蠹; 8, 拉脱裸灶蠹; 9, 待定种 2; 10, 待定种 1; 11, 待定种 4。Note: 1, *Tachycines* (*Gymnaeta*) *fallax*; 2, *Tachycines* (*Gymnaeta*) *chenhui*; 3, *Tachycines* (*Gymnaeta*) *cavernus*; 4, *Tachycines* (*Gymnaeta*) *borutzkyi*; 5, *Tachycines* (*Gymnaeta*) *solidus*; 6, *Tachycines* (*Gymnaeta*) *lalinus*; 7, *Tachycines* (*Gymnaeta*) *zorzi*; 8, *Tachycines* (*Gymnaeta*) *latellai*; 9, *Tachycines* (*Gymnaeta*) sp2.; 10, *Tachycines* (*Gymnaeta*) sp1.; 11, *Tachycines* (*Gymnaeta*) sp4.

表 5 各洞穴中物种遗传多样性指数统计表
Table 5 Statistical table of species genetic diversity index in each cave

洞穴名称 Cave's name	种名 Species	序列条数 Sequence number	多态位 点 (S) Polymorphic site	单倍型 (h) Haplotype	单倍型多 样性 (Hd)	核酸多样 性 (Pi)
大洞 DD	拉林裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>lalinus</i>	8	1	2	0.2500	0.0004
	实心裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>solidus</i>	3	0	1	0.0000	0.0000
	洞穴裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>cavernus</i>	4	3	2	0.6670	0.0031
	波氏裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>borutzkyi</i>	10	4	4	0.7110	0.0023
菜地洞 CDD	待定种 1 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) sp1.	2	0	1	0.0000	0.0000
	待定种 2 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) sp2.	2	4	2	1.0000	0.0063
	拉脱裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>latellai</i>	4	0	1	0.0000	0.0000
白龙洞 BLD	伪裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>fallax</i>	4	1	2	0.5000	0.0008
	陈氏裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>chenhui</i>	5	1	2	0.4000	0.0006
邱家洞 QJD	伪裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>fallax</i>	4	1	2	0.5000	0.0008
	陈氏裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>chenhui</i>	2	1	2	1.0000	0.0016
熊洞 XD	伪裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>fallax</i>	5	1	2	0.4000	0.0006
	陈氏裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>chenhui</i>	11	1	2	0.1820	0.0003
水牛洞 SND	卓氏裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>zorzi</i>	9	1	2	0.2220	0.0004
摩天大洞 MTDD	卓氏裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>zorzi</i>	10	1	2	0.5330	0.0008
关牛洞 GND	卓氏裸灶蠹 <i>Tachycines</i> (<i>Gymnaeta</i>) <i>zorzi</i>	13	2	3	0.5000	0.0009

3 结论与讨论

3.1 物种鉴定

我国作为驼蠹科昆虫的重要产地,吸引不少研究者对其进行分类研究,但大都致力于属的修订和新种的描述,由于不同的分类学者持不同的分类观点,导致分类系统难以统一;有的昆虫在若虫阶段时,难以利用生殖器区分具体的物种,或只通过形态特征进行鉴定容易出现错误,而基于分子条形码的物种鉴定技术则可以弥补其中的不足之处,辅助物种鉴定(林森杰等,2014;李海涛等,2019),甚至弥补不同发育阶段标本形态鉴定难的问题(Barber *et al.*, 2006; Puillandre *et al.*, 2009),同时,线粒体基因组序列被认为是解决种下阶元到目级阶元最广泛最有效的分子遗传标记(Cameron, 2014),如利用线粒体基因组构建直翅目高级阶元(科、总科)之间的系统发育树探讨其亲缘关系(Song *et al.*, 2015; Zhou *et al.*, 2017)。本研究利用 *COI* 基因作为分子标记,成功对裸灶蠹亚属物种进行鉴定,说明线粒体 *DNA* barcoding 基因在裸灶蠹亚属物种鉴定中具有普适性。在构建的分子进化树上,卓氏裸灶蠹与拉林裸灶蠹的亲缘关系最近,这与二者在形态鉴定描述上极为相似是一致的(Feng *et al.*, 2019),同时,洞穴裸灶蠹、实心裸灶蠹和波氏裸灶蠹在进化树上聚为一支,且遗传距离最近,三者形态鉴定描述上也极为相似(秦艳艳, 2020),除此,陈氏裸灶蠹与拉脱裸灶蠹在进化树上的位置,与二者在意大利学者联合 *COI* 和 *ITS1* 基因对灶蠹亚科构建的系统发育树上的位置极其相似(Valerio *et al.*, 2013),说明本研究通过形态结合分子的方法鉴定出的结果具有很高的可信度。鉴定中遗留的4个待定种因其为若虫和缺少雄性标本,而且分子数据库缺乏相关的数据比对,故也无法通过系统发育鉴定到具体物种,在接下来的研究中,需对菜地洞、大洞和邱家洞进行重复采样,尽可能选择采集成虫,对其进行形态鉴定以确定具体物种。

3.2 裸灶蠹分布受地理隔离的影响

伪裸灶蠹的模式产地在云南腾冲大蒿坪(Zhang & Liu, 2009),本研究中采自贵州黔西南地区的标本也鉴定出该物种,黔西南地区与云南邻界,可能两地存在基因交流。洞穴裸灶蠹的模

式产地在湖北通山隐水洞(Jaio *et al.*, 2008; Qin *et al.*, 2019),在湖南也有分布,与模式产地为重庆的波氏裸灶蠹(Gorochoy, 1998)和模式产地为湖南龙山的实心裸灶蠹(Gorochoy *et al.*, 2006)很相似,后两种在贵州均有分布(温清, 2018; Qin *et al.*, 2019; 秦艳艳, 2020),本研究采自贵州铜仁地区的标本也鉴定出洞穴裸灶蠹物种,铜仁地区与湖南及重庆邻界,因此,说明地区之间可能存在基因交流。鉴定结果中,来自毕节地区的摩天大洞、关牛洞和水牛洞之间,以及来自黔西南地区的邱家洞、熊洞和白龙洞之间,不同洞穴中存在相同物种,而对于来自毕节、黔西南、黔南和铜仁不同地区洞穴之间不存在相同物种,可能是受贵州“四山八水”造成的地理隔离的影响,也说明裸灶蠹活动能力较弱,适合进行洞穴生物起源和进化历史的假说验证研究。

3.3 洞穴环境与裸灶蠹遗传多样性的关系

核苷酸多样性 P_i 用于衡量物种或种群的多态性程度,其数值越大说明物种或种群的遗传多样性就会越高(Avise & Zink, 1988)。从物种遗传多样性结果结合洞穴描述可知,菜地洞位于半山腰,虽洞穴空间较小,但基本无人为活动,没有开采痕迹,因此,遗传多样性最高;邱家洞、大洞、白龙洞和熊洞人为活动干扰少,没有开采痕迹,洞内相对湿度较高,其遗传多样性也较高;关牛洞、水牛洞和摩天大洞虽洞穴空间大,但人为活动干扰频繁,开发痕迹严重,因此,仅发现一种裸灶蠹物种,且32条 *COI* 基因仅有一个变异位点,说明洞穴的开发对洞内物种遗传多样性以及物种种类的下降有一定的影响。洞穴旅游开发对生态环境影响分析发现,洞穴开发前后洞中蝙蝠、芒灶蠹和蜘蛛数量会减少(邓亚东等, 2011)。洞栖蝙蝠的多样性研究显示洞穴的旅游开发对蝙蝠的栖息地造成了严重破坏,使得洞栖蝙蝠面临着生存危机(卜艳珍等, 2014)。因此,对于洞穴空间较大,物种较丰富的洞穴,应合理开发,尽量减少人为干扰并加强科学管理与保护,避免旅游开发而造成物种灭绝。对于遗传多样性指数为零的物种,如实心裸灶蠹和拉脱裸灶蠹等,除增加标本数据进一步研究外,也需重视洞穴中该物种的保护。

致谢: 非常感谢周旭林师兄在形态鉴定上的指导和帮助。

参考文献 (References)

- Adelung. Beitrag zur Kenntnis der palaarktischen Stenopelmatiden (Orthoptera, Locustodea) [J]. *Extrait L' Annuaire Musee Zoologique L'Academie Imperiale Science St. Petersbourg*, 1902a, 7: 55 - 75.
- Adelung. On some Orthoptera from South Japon [J]. *Annuaire du Musée Zoologique de L'Académie Impériale des Sciences de St. Pétersbourg*, 1902b. 7: 56.
- Avise, John C, Zink, et al. Molecular genetic divergence between avian sibling species - king and clapper rails, long - Billed and short - billed dowitchers, boat - tailed and great - tailed grackles, and tufted and black - crested titmice [J]. *The Auk: Ornithological Advances*, 1988, 105 (3): 516 - 528.
- Barber P, Boyce SL. Estimating diversity of Indo-Pacific coral reef stomatopods through DNA barcoding of stomatopod larvae [J]. *Proceedings of the Royal Society B*, 2006, 273 (1597): 2053 - 2061.
- Bu YZ, Wang YM, Liu W, et al. Diversity and conservation of cave - dwelling bats in Henan Province, China [J]. *Acta Theriologica Sinica*, 2014, 34 (3): 252 - 261. [卜艳珍, 王艳梅, 刘伟等. 河南省洞栖蝙蝠的多样性与保护 [J]. 兽类学报, 2014, 34 (3): 252 - 261]
- Cameron SL. Insect mitochondrial genomics: Implications for evolution and phylogeny [J]. *Annual Review of Entomology*, 2014, 59 (1), 95 - 117.
- Chen HM, Zhu MS. One new genus and species of troglobite spiders (Araneae, Leptonetidae) from Guizhou, China [J]. *Journal of Dali University*, 2008, 7 (12): 11 - 14. [陈会明, 朱明生, 贵州织金洞真洞穴蜘蛛一新属一新种 (蜘蛛目 Araneae: 弱蛛科 Leptonetidae) [J]. 大理学院学报, 2008, 7 (12): 11 - 14]
- Deng YD, Chen WH, Zhang YH, et al. Ecological environment influenced by karst show cave exploitation - a case study on Shuijingong cave in Bama [J]. *Journal of Guilin University of Technology*, 2011, 31 (3): 412 - 417. [邓亚东, 陈伟海, 张远海等. 岩溶洞穴旅游开发对生态环境影响分析 - 以巴马水晶宫为例 [J]. 桂林理工大学学报, 2011, 31 (3): 412 - 417]
- Feng XL, Huang SH, Luo CQ. A new species of the subgenus *Tachycines* (*Gymnaeta*) (Orthoptera: Rhaphidophoridae) from karst caves of southern Guizhou, China [J]. *Zootaxa*, 2019, 4674 (4): 491 - 495.
- Feng XL, Huang SH, Luo CQ. Three new cave species of the subgenus *Tachycines* (*Gymnaeta*) (Orthoptera: Rhaphidophoridae: Aemodogryllinae) from northern Guizhou, China [J]. *Zootaxa*, 2020, 4820 (3): 563 - 571.
- Folme O, Black M, Hoeh W, et al. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates [J]. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 1994, 3 (5): 294 - 299.
- Fredrik R, Maxim T, Paul VDM, et al. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space [J]. *Systematic Biology*, 2012, 61 (3): 539 - 42.
- Gorochov AV, Storozhenko SY. On the fauna of the subfamily Aemodogryllinae (Orthoptera, Rhaphidophoridae) in Vietnam [J]. *Proceedings of the Zoological Institute of the Russian Academy of Science*, 1992, 245, 17 - 34.
- Gorochov M, Rampini C, Di Russo. New species of the genus *Diestrammena* (Orthoptera: Rhaphidophoridae Aemodogryllinae) from caves of China [J]. *Russian Entomological Journal*, 2006, 15 (4): 355 - 360.
- Gorochov. Bijdragen tot de kennis der Orthoptera. in Temminck [J]. *Entomologisch Obozrenie*, 1998, 77 (1): 46.
- Guo X, Yu ZG, Chen HM. One new spider species of genus *Leptonetela* (Araneae: Leptonetidae) from cave in Guizhou, China [J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 2016, 35 (3): 395 - 399. [郭轩, 余志刚, 陈会明. 贵州洞穴小弱蛛属一新种记述 (蜘蛛目: 弱蛛科) [J]. 四川动物, 2016, 35 (3): 395 - 399]
- Hall TA. BioEdit: A user - friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT [J]. *Nucleic Acids Symposium Series*, 1999, 41: 95 - 98.
- Huang S, Luo C. A new species of the subgenus *Tachycines* (*Tachycines*) (Orthoptera: Rhaphidophoridae) from Guizhou, China [J]. *Zootaxa*, 2019, 4658 (2): 396 - 400.
- Jaio ZJ, Niu CY, Liu XW, et al. Descriptions of Chinese species of the subgenus *Diestrammena* (*Gymnaeta*) Adelung (Orthoptera: Rhaphidophoridae) [J]. *Zootaxa*, 2008, 1917: 55.
- Jao ZJ. Characteristics to Adapt Cave Environment and Molecular Phylogeny of *Diestrammena Caverna* sp. n. [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2010. [焦忠久. 洞穴裸灶螽与洞穴环境相适应的特征及分子系统发育研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2010]
- Karny HH. Zur Kenntnis der ostasiatischen Rhaphidophorinen (Orth. Salt. Gryllacrididae) [J]. *Konowia, Zeitschrift für Systematische Insektenkunde*, 1934, 13 (1 - 3): 214 - 230.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets [J]. *Molecular Biology & Evolution*, 2016, 33 (7): 1870.
- Li DH, Chen DN, Luo TC, et al. A preliminary study on species diversity and distribution of snails in caves of Guizhou Province [J]. *Carsologica Sinica*, 2003a, 3: 48 - 54. [黎道洪, 陈德牛, 罗泰昌等. 贵州洞穴螺类的物种多样性及分布初步研究 [J]. 中国岩溶, 2003a, 3: 48 - 54]
- Li DH, Luo TC, Chen DN. A new species of land snail from Guizhou Province, China (Pulmonata, Stylommatophora, Clausiliidae) [J]. *Zoological Systematics*, 2003b, 3: 446 - 447. [黎道洪, 罗泰昌, 陈德牛. 贵州洞穴陆生贝类一新种 (肺螺亚纲, 柄眼目, 烟管螺科) [J]. 动物分类学报, 2003b, 3: 446 - 447]
- Li HT, Zhou P, He J, et al. Species identification of architectonic veliger larvae based on morphological and mitochondrial 16S rRNA gene [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2019, 50 (1): 228 - 235. [李海涛, 周鹏, 何静等. 基于形态学和 16S rRNA 基因序列的轮螺科面盘幼虫物种鉴定 [J]. 海洋与湖沼, 2019, 50 (1): 228 - 235]
- Liang S, Yang WC, Peng T, et al. Study on animal community structure in the first and seventh caves of Baiyangping in Guizhou Province [J]. *Journal of Guizhou Normal University (Natural Science)*, 2015, 33 (1): 1 - 7. [梁盛, 杨卫诚, 彭涛等. 贵州白杨坪 1 号洞和 7 号洞洞穴动物群落结构研究 [J]. 贵州师范大学学报 (自然科学版), 2015, 33 (1): 1 - 7]

- Lin SJ, Wang L, Zheng LM, *et al.* Current status and future prospect of DNA barcoding in marine biology [J]. *Haiyang Xuebao*, 2014, 36 (12): 1–17. [林森杰, 王路, 郑连明等. 海洋生物 DNA 条形码研究现状与展望 [J]. 海洋学报, 2014, 36 (12): 1–17]
- Ma TT. The Molecular Phylogenetic Research of Ruidocollaris and Sinochlora [D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2011. [马婷婷. 糙颈露螽属和华绿露螽属的分子系统学研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2011]
- Puillandre N, Strong EE, Bouchet P *et al.* Identifying gastropod spawn from DNA barcodes: Possible but not yet practicable [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2009, 9 (5): 1311–1321.
- Qin YY, Liu XW & Li K. Review of the subgenus *Tachycines* (*Gymnaeta*) Adelung, 1902 (Orthoptera, Rhaphidophoridae, Aemodogryllinae, Aemodogryllini) [J]. *Zootaxa*, 2019, 4560 (2): 273–310.
- Qin YY, Wang HQ, Liu XW, *et al.* Divided the genus *Tachycines* Adelung (Orthoptera: Rhaphidophoridae: Aemodogryllinae: Aemodogryllini) from China [J]. *Zootaxa*, 2018, 4374 (4): 451–475.
- Qin YY. A Taxonomic Research About Rhaphidophoridae (Orthoptera) Based on Morphology and Molecular Marker From China [D]. Wuhan: East China Normal University, 2020. [秦艳艳. 基于形态学特征和分子标记的中国驼螽科分类研究 (直翅目) [D]. 武汉: 华中师范大学, 2020]
- Rambaut A, Drummond AJ. FigTree v1.4.3 [EB]. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/> [2016–10–04].
- Rampini M, Di Russi C, Cobolli M. The aemodogryllinae cave crickets from Guizhou, southern China (Orthoptera: Rhaphidophoridae) [J]. *Monografie Naturalistiche*, 2008, 3: 129–142.
- Rozas J, Ferrer-Mata A, Sanchez-Delbarrio, *et al.* DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large datasets [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2017, 34 (12): 3299–3302.
- Song H, Amédégato C, Cigliano M, *et al.* 300 million years of diversification: Elucidating the patterns of Orthopteran evolution based on comprehensive taxon and gene sampling [J]. *Cladistics*, 2015, 31: 621–651.
- Valerio, Ketmaier, Claudio, *et al.* Molecular divergence and evolutionary relationships among Aemodogryllinae from Southern China, Laos and Thailand (Orthoptera, Rhaphidophoridae) [J]. *Subterranean Biology*, 2013, 10: 25–35.
- Wallace, Steven P, Levy – Storms, *et al.* The persistence of race and ethnicity in the use of long – term care [J]. *Journals of Gerontology Series B: Psychological Sciences & Social Sciences*, 1998, 53 (2): 104–112.
- Wang J, Cheng X, Peng J. The concise analysis of ecosystem inkarst caves [J]. *Journal of Guizhou Normal University* (Natural Science), 2000, 3: 22–25. [王剑, 程星, 彭建. 喀斯特洞穴生态系统浅析 [J]. 贵州师范大学学报 (自然科学版), 2000, 3: 22–25]
- Wang YY. Study on Phylogeny and Comparative Phylogeography of Sinochlora [D]. Haerbin: Northeast Forestry University, 2015. [王野影. 华绿露螽属 *Sinochlora* 的系统发育和比较谱系地理学研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2015]
- Weckstein JD, Johnson KP, Murdoch JD, *et al.* Comparative phylogeography of two codistributed subgenera of cave crickets (Orthoptera: Rhaphidophoridae: *r*, *ceuthophilus* *r*, spp.) [J]. *Journal of Biogeography*, 2016, 43 (7): 1450–1463.
- Wen Q, Yang WC, Tao HM. A study on the relationship between animal community structure and the cave environment factors in Lashanhe Cave in Guizhou [J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 2017, 36 (4): 404–411. [温清, 杨卫诚, 陶红梅. 贵州松桃腊山河洞洞穴动物群落结构与环境因子的关系研究 [J]. 四川动物, 2017, 36 (4): 404–411]
- Wen Q. A Preliminary Study on Insect Taxonomy of Karst Cave in Guizhou Province [D]. Guiyang: Guizhou Normal University, 2018. [温清. 贵州省喀斯特洞穴昆虫分类学研究 [D]. 贵阳: 贵州师范大学, 2018]
- Yang WC, Li DH, Shu T, *et al.* Investigation on resources of Dolomite karst cave animals in Shibing county of Guizhou [J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2013, 41 (12): 199–203. [杨卫诚, 黎道洪, 舒田等. 贵州施秉白云岩喀斯特地区洞穴动物资源调查 [J]. 贵州农业科学, 2013, 41 (12): 199–203]
- Yang ZZ, Chen HM. Description of a new cave spider species of genus *Weintrauboa* from Guizhou Province, China (Araneae: Pimoidae) [J]. *Journal of Chuxiong Normal University*, 2018, 33 (3): 43–45. [杨自忠, 陈会明. 贵州洞穴文蛛属 *Weintrauboa* 一新种记述 (蜘蛛目: 派模蛛科) [J]. 楚雄师范学院学报, 2018, 33 (3): 43–45]
- Zhang F, Liu XW. A review of the subgenus *Diestrammena* (*Gymnaeta*) from China (Orthoptera: Rhaphidophoridae: Aemodogryllinae) [J]. *Zootaxa*, 2009, 2272: 21–36.
- Zhang F. A Taxonomic Study on The *Diestrammena* From China (Orthoptera: Haphidophoridae: Aemodogryllinae) [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2010. [张丰. 中国芒灶螽属分类研究 (直翅目: 驼螽科: 灶螽亚科) [D]. 上海: 上海师范大学, 2010]
- Zhang G, Yang WC, Liang Y, *et al.* Correlation study between cave animal community and the cavern environment in Dolomite karst area, Guizhou Province [J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 2015, 34 (3): 375–382. [张广, 杨卫诚, 梁云等. 贵州白云岩喀斯特洞穴动物群落结构及其与环境因子关系研究 [J]. 四川动物, 2015, 34 (3): 375–382]
- Zhou J. Dwell-cave fish diversity in South and Southwest Guizhou [J]. *Journal of Guizhou Normal University* (Natural Science), 2019, 37 (2): 1–15. [周江. 贵州南部及西南部典型洞穴鱼类物种多样性研究 [J]. 贵州师范大学学报 (自然科学版), 2019, 37 (2): 1–15]
- Zhou XL, Yang WC. A new species of *Tachycines* Adelung, 1902 (Orthoptera, Rhaphidophoridae, Aemodogryllinae, Aemodogryllini) from karst caves in Guizhou, China [J]. *ZooKeys*, 2020, 937: 21–29.
- Zhou ZJ, Zhao L, Liu N, *et al.* Towards a higher – level ensifera phylogeny inferred from mitogenome sequences [J]. *Molecular Phylogenetics & Evolution*, 2017, 108: 22–33.
- Zhu QD, Chen HM, Shi FM. Remarks on the genus *Tachycines* Adelung, 1902 (Orthoptera: Rhaphidophoridae: Aemodogryllinae) with description of eight new species from caves in southern China [J]. *Zootaxa*, 2020, 4809 (1): 71–94.