应用昆虫学报 *Chinese Journal of Applied Entomology* 2017, 54(4): 646–651. DOI: 10.7679/j.issn.2095–1353.2017.079

利用 28S rDNA 种特异引物鉴定新菠萝灰粉蚧*

黄蓬英[1**] 林凌鸿[2] 方志鹏[1] 林玲玲[1] 廖富荣[1]

（1. 厦门出入境检验检疫局检验检疫技术中心，厦门 361026；2. 福建农林大学植物保护学院，福州 350002）

摘 要 **【目的】** 新菠萝灰粉蚧 *Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley 是近年来口岸中经常截获的检疫性有害生物，其与近似种形态差异小，极易随进境果蔬及种苗传播蔓延，但却难以快速准确鉴定。**【方法】** 以新菠萝灰粉蚧为靶标，进境水果中常截获的其他 6 种粉蚧为对照，利用扩增粉蚧的 28S rDNA 通用引物扩增 7 种粉蚧基因部分序列，同时应用 Primer Premier 5 软件设计新菠萝灰粉蚧 28S rDNA 种特异引物 1 对（D.neo-28SF/R）。**【结果】** 获得了新菠萝灰粉蚧及其他 6 种粉蚧的 28S rDNA 基因部分序列；种特异引物（D.neo-28SF/R）能稳定扩增出片段大小为 235 bp 条带，且该引物只对新菠萝灰粉蚧具有扩增能力，对其他 6 种粉蚧不具有扩增效果；对不同寄主来源新菠萝灰粉蚧亦具有同样的扩增效能。**【结论】** 利用基于 28S rDNA 种特异性 PCR 方法，建立了新菠萝灰粉蚧快速分子检测技术。该技术方法完全可用于新菠萝灰粉蚧的准确识别，对有效阻截其进一步扩张蔓延具有重要实践意义。

关键词 新菠萝灰粉蚧，粉蚧，种特异引物，分子检测，快速鉴定

Identification of *Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley (Hemiptera: Pseudococcus) using 28S rDNA species-specific primers

HUANG Peng-Ying[1**] LIN Ling-Hong[2] FANG Zhi-Peng[1] LIN Ling-Ling[1] LIAO Fu-Rong[1]

(1. Inspection and Quarantine Technology Center, Xiamen Entry-exit Inspection and Quarantine Bureau, Xiamen 361012, China; 2. College of Plant Protection, Fujian Agricultural and Forestry University, Fuzhou 350002, Chian)

Abstract **[Objectives]** *Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley, a new invasive species in China, is a worldwide pest that poses a serious threat to agriculture and forestry. Morphological identification of this species is limited by its close similarity to other mealybug species. **[Methods]** To address this problem a new method for the rapid identification of *D. neobrevipes* was developed and a pair of 28S rDNA species-specific primers (D.neo-28SF/R) were designed. The 28S rDNA genes of *D. neobrevipes* and six other mealybug species were amplified and sequenced. **[Results]** 28S rDNA species-specific primers (D.neo-28SF/R) amplified a single band of 235 bp for *D. neobrevipes*. The species-specificity of this primer pair was validated with the six other mealybug species mentioned above. The results show that only *D. neobrevipes* rDNA was amplified, and no products from other mealybugs were obtained. The method was also tested on individual *D. neobrevipes* from different countries and hosts. **[Conclusion]** The diagnostic PCR assay established here provides a quick, simple and reliable molecular technique for the identification of *D. neobrevipes*, which will be useful in intercepting and preventing further spreading of this pest.

Key words *Dysmicoccus neobrevipes*, mealybug, 28S rDNA species specific primers, molecular detection, rapid identification

新菠萝灰粉蚧 *Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley 属半翅目 Hemiptera，蚧总科 Coccoidea，粉蚧科 Pseudococcidae，其寄主范围十分广泛，分布在热带、亚热带地区，主要危害菠萝、香蕉、番荔枝、柑橘、葡萄、剑麻等农林经济作物，目前在我国仅海南、台湾、广东局部有分布记载（徐浪，2013）。新菠萝灰粉蚧以卵、幼虫和成虫寄生在寄主植物表面，因而极易随寄主传播，被列

*资助项目 Supported projects：国家质检总局科技计划项目（2016IK185）；厦门市科技计划项目（3502Z20144078，3502Z20154080）

**通讯作者 Corresponding author，E-mail：hpy7766@163.com

收稿日期 Received：2016-12-07，接受日期 Accepted：2017-03-01

入中华人民共和国进境植物检疫性有害生物名录，在口岸检疫中常有截获。

新菠萝灰粉蚧种类识别主要基于雌成虫的外部形态特征，但新菠萝灰粉蚧与菠萝灰粉蚧二者形态极相似，且形态上的鉴定特征对于口岸经常截获的卵、幼虫或残体无能为力。因此，传统的形态学方法难以满足口岸果蔬及种苗调运中对新菠萝灰粉蚧快速鉴定的现实需求，尤其当截获的样本为卵、若虫或残体时，因此对其进行快速准确鉴定是有效阻止其进一步传播扩散的必要前提。

目前，分子检测技术在粉蚧鉴定中应用相当多。徐浪等（2010）建立了大洋臀纹粉蚧 *Planococcus minor*（Maskell）和南洋臀纹粉蚧 *Planococcus lilacinus* Cockerell 荧光 PCR 特异检测方法，徐浪（2013）还应用 COⅠ通用引物测定蚧虫的 COⅠ基因部分序列，再将测序所得的序列与 BOLD 和 GenBank 中的 DNA 条形码数据库比对，实现了相关蚧虫的鉴定。何衍彪等（2011）分析比较了 12 种粉蚧亲缘关系，指出通过序列分析结果表明，28S 序列适合于新菠萝灰粉蚧、菠萝灰粉蚧、扶桑绵粉蚧等粉蚧种间的分子鉴定。田虎等（2013）根据 COⅠ基因种的特异性，设计了扶桑绵粉蚧种特异性 COⅠ引物，成功鉴别了扶桑绵粉蚧。石晶晶等（2016）选用 3 个分子标记进行引物筛选、基因扩增和序列分析，确定了 COⅠ和 28S 基因片段均可作为快速准确鉴定新菠萝灰粉蚧和菠萝灰粉蚧的有效分子标记。王玉生等（2016）研究确定了基于 COⅠ基因的条形码技术完全可用于大洋臀纹粉蚧的快速准确鉴定。徐浪等（2016）利用 TaqMan MGT 探针快速鉴定了新菠萝灰粉蚧和菠萝灰粉蚧。国外学者在粉蚧分子鉴定方面也做了很多研究，Saccaggi 等（2008）利用多重 PCR 方法扩增 mtDNA COⅠ序列，通过序列分析成功地将葡萄绵粉蚧、橘臀纹粉蚧和长尾粉蚧区别开来。Rung 等（2009）通过 PCR-RELP 方法比较大洋臀纹粉蚧和橘臀纹粉蚧 COⅠ基因的酶切位点，将这两种粉蚧准确区分。Sethusa（2014）等研究发现，28S 基因作为 COⅠ基因的补充，可以提高粉蚧鉴定的成功率。

本研究围绕新菠萝灰粉蚧极易随果蔬及种苗的调运而传播蔓延，对农林业生产存在巨大威胁，却难以进行快速准确鉴定的问题，采用基于 28S rDNA 的种特异 PCR 方法，研究其快速鉴定技术，同时，以粉蚧科在口岸中经常截获的其他属种的 6 种粉蚧为对照，进行种特异性检验；以不同寄主来源的新菠萝灰粉蚧进行通用性应用验证。该检测技术体系的建立为新菠萝灰粉蚧快速准确识别提供了依据，为有效阻截新菠萝灰粉蚧在我国的进一步传播扩散和危害提供了技术保障。

1　材料与方法

1.1　供试粉蚧

供试粉蚧来源于厦门口岸从中国台湾和东南亚进境或旅客携带水果中截获（表 1），浸泡于无水乙醇中，－20℃冰箱中冷冻保存。

1.2　粉蚧基因组 DNA 的提取

单头粉蚧基因组 DNA 的提取参照 TIANamp Genomic DNA Kit 血液/细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒（离心柱型）。粉蚧虫体的研磨参照徐浪等（2010）。

1.3　粉蚧类昆虫 28S rDNA 基因部分序列的扩增

以表 1 中粉蚧的 DNA 为模板，以扩增粉蚧 28S rDNA 基因的通用引物（Penny *et al.*，2009）进行 PCR 扩增。其中，引物序列分别为上游引物 S3660：GAGAGTTMAASAGTACGTGAAAC，下游引物 A335：TCGGARGGAACCAGCTACTA。由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。25 μL PCR 反应体系为：Easy Taq Buffer（包括 10 mmol/L $MgCl_2$）2.5 μL，2.5 mmol/L dNTP Mixture 2 μL，上游引物、下游引物各 2 μL，Easy Taq DNA Polymerase（5 U/μL）0.25 μL，模板 DNA 4 μL，加灭菌双蒸馏水（ddH_2O）12.25 μL，每对引物做 25 μL 的 2 个重复。反应参数为：95℃预变性 4 min；94℃变性 1 min，52℃退火 1 min，72℃延伸 1.5 min，运行 35 个循环；最后 72℃延伸 4 min。

表 1 所用粉蚧（成虫）的标本信息
Table 1 Detailed information of mealybugs used for the study

序号 No.	种类 Species	来源地 Origin	寄主 Host species	采集时间（年.月） Date (year.month)
1	新菠萝灰粉蚧 *Dysmicoccus neobrevipes*	菲律宾 Philippine	香蕉 *Ananas comosus*	2012.9
2	新菠萝灰粉蚧 *D. neobrevipes*	菲律宾 Philippine	香蕉 *Ananas comosus*	2012.11
3	新菠萝灰粉蚧 *D. neobrevipes*	菲律宾 Philippine	香蕉 *Ananas comosus*	2011.6
4	新菠萝灰粉蚧 *D. neobrevipes*	旅检截获，航班号 MF868 Intercepted from passenger, flight MF868	红毛丹 *Nephelium lappaceum*	2015.4
5	新菠萝灰粉蚧 *D. neobrevipes*	旅检截获，航班号 KA604 Intercepted from passenger, flight KA604	红毛丹 *Nephelium lappaceum*	2013.8
6	新菠萝灰粉蚧 *D. neobrevipes*	中国台湾 Taiwan, China	菠萝 *Ananas comosus*	2015.4
7	新菠萝灰粉蚧 *D. neobrevipes*	中国台湾 Taiwan, China	香蕉 *Ananas comosus*	2010.7
8	菠萝灰粉蚧 *Dysmicoccus brevipes*	中国台湾 Taiwan, China	菠萝 *Ananas comosus*	2012.3
9	李比利氏灰粉蚧 *Dysmicoccus lepelleyi*	旅检截获，航班号 MI922 Intercepted from passenger, flight MI922	山竹 *Garcinia mangostana*	2014.7
10	杰克贝尔氏粉蚧 *Pseudococcus jackbeardsleyi*	越南 Vietnam	火龙果 *Hylocereus undulatus*	2015.3
11	大洋臀纹粉蚧 *Planococcus minor*	中国台湾 Taiwan, China	番荔枝 *Annona squamosa*	2014.11
12	橘臀纹粉蚧 *Planococcus citri*	中国台湾 Taiwan, China	莲雾 *Syzygium samarangense*	2013.2
13	腺刺粉蚧 *Ferrisia virgata*	旅检截获，航班号 MF852 intercepted from passenger, flight MF852	红毛丹 *Nephelium lappaceum*	2014.6

1.4 序列测定、比对及数据分析

PCR 产物经回收纯化后委托上海生工生物工程公司完成克隆及序列测定。测序获得数据后，采用 MEGA 6 （Molecular Evolutionary Genetics Analysis, 6.0）软件打开峰图文件，检查序列的单一性，而后对序列进行拼接，去除两端的引物序列，保留完整的 28S rDNA 基因片段序列。再将测序所得 DNA 序列通过 NCBI 作 BLAST 相似性检索，经人工核对后确认所得的序列片段。

1.5 特异引物的设计及对不同来源新菠萝灰粉蚧 28S rDNA 的扩增

根据新菠萝灰粉蚧 *Dysmicoccus neobrevipes* Beardley、菠萝灰粉蚧 *Dysmicoccus brevipes* （Cockerell）、李比利氏灰粉蚧 *Dysmicoccus lepelleyi*（Betrem）、大洋臀纹粉蚧 *Planococcus minor*（Maskell）、橘臀纹粉蚧 *Planococcus citri*（Risso）、杰克贝尔氏粉蚧 *Pseudococcus jackbeardsleyi* Gimpel& Miller 和腺刺粉蚧 *Ferrisia virgata* Cockerell 7 种粉蚧的测序结果及数据库中已有相关序列，进行各序列间差异比对，应用 Primer Premier 5 软件为新菠萝灰粉蚧在 28S rDNA 区设计了一条特异引物（D.neo-28SF/R），上游引物为 D.neo-28SF: CGTG-TGCGCTCGACGGGGTT，下游引物为 D.neo-28SR：CCGAAGCGAACGCCGCAA。引物由上海生工生物工程公司合成。

1.6 新菠萝灰粉蚧种特异引物的特异性检测

以口岸常截获的菠萝灰粉蚧、李比利氏灰粉

蚧、大洋臀纹粉蚧、橘臀纹粉蚧、杰克贝尔氏粉蚧和腺刺粉蚧单头成虫 DNA 为模板，以新菠萝灰粉蚧成虫 DNA 为阳性对照，检验新菠萝灰粉蚧 28S rDNA 种特异引物（D. neo-28SF/R）的种特异性。PCR 扩增反应体系及参数除退火温度为 60℃外，同 1.3，琼脂糖凝胶电泳检测结果。

1.7　新菠萝灰粉蚧种特异引物的通用性检测

为确定种特异引物的通用性，选取不同寄主来源的新菠萝灰粉蚧，各自提取基因组 DNA 作为模板，进行目的片段扩增效果检验，PCR 扩增反应体系及参数同 1.6，琼脂糖凝胶电泳检测结果。

1.8　新菠萝灰粉蚧种特异引物的灵敏度检测

为鉴定所设计的引物及 PCR 反应所能测定的单头粉蚧 DNA 浓度，采用梯度稀释法，按 10 倍梯度逐级稀释，PCR 扩增反应体系及参数同 1.6，琼脂糖凝胶电泳检测结果。

2　结果与分析

2.1　新菠萝灰粉蚧 28S rDNA 基因的 PCR 扩增

利用粉蚧 28S rDNA 通用引物对表 1 中所述 7 种粉蚧进行 PCR 扩增，电泳结果显示，引物对 S3660F/A335R 对 7 种粉蚧均扩增到约 800 bp 的条带（图 1）。经测序、拼接获得了 7 种粉蚧 28S rDNA 基因部分序列，经与 GenBank 中已发布的相应种类比较，相似度均达 99%以上。

2.2　新菠萝灰粉蚧种特异引物的特异性检验

以新菠萝灰粉蚧成虫 DNA 为阳性对照，利用特种异引物（D. neo-28SF/R）对其他 6 种粉蚧成虫的进行种特异性检验。电泳检测结果表明，该引物只对新菠萝灰粉蚧样品有扩增能力，得到大小为 235 bp PCR 产物，而对近缘属种的其他 6 种粉蚧则无此扩增产物（图 2）。新菠萝灰粉蚧种特异引物扩增效果理想。

2.3　特异引物对不同寄主来源新菠萝灰粉蚧的检测

利用新菠萝灰粉蚧种特异引物（D. neo-28SF/R）对不同寄主来源的新菠萝灰粉蚧进行通用性检测，结果表明，新菠萝灰粉蚧种特异引物对从中国台湾菠萝、入境旅客携带红毛丹，菲律宾香蕉，中国台湾香蕉等 7 种不同寄主来源截获

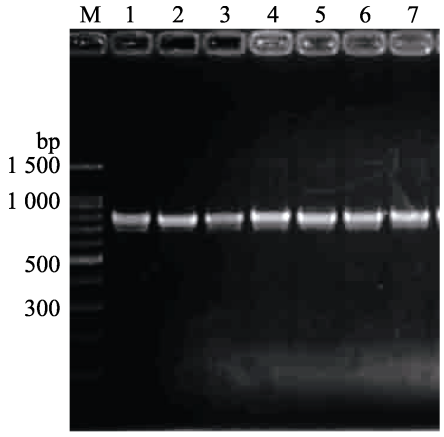

图 1　通用引物 S3660F/A335R 对 7 种粉蚧 28S rDNA 基因扩增结果

Fig. 1　PCR amplification of seven mealybug species using 28S rDNA gene universal primer S3660F/A335R

M：100 bp 标准分子量 100 bp DNA marker；1：杰克贝尔氏粉蚧 *P. jackbeardsleyi*；2：大洋臀纹粉蚧 *P. minor*；3：橘臀纹粉蚧 *P. citri*；4：新菠萝灰粉蚧 *D. neobrevipes*；5：菠萝灰粉蚧 *D. brevipes*；6：腺刺粉蚧 *F. virgata*；7：李比利氏粉蚧 *D. lepelleyi*.

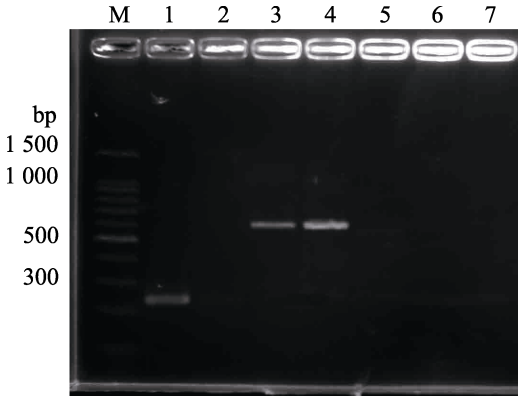

图 2　新菠萝灰粉蚧 28S rDNA 种特异引物的特异性检验

Fig. 2　PCR amplification of *Dysmicoccus neobrevipes* and other six mealybug species using 28S rDNA species-specific primers

M：100 bp 标准分子量 100 bp DNA marker；1：新菠萝灰粉蚧 *D. neobrevipes*；2：杰克贝尔氏粉蚧 *P. jackbeardsleyi*；3：大洋臀纹粉蚧 *P. minor*；4：橘臀纹粉蚧 *P. citri*；5：腺刺粉蚧 *F. virgata*；6：菠萝灰粉蚧 *D. brevipes*；7：李比利氏灰粉蚧 *D. Lepelleyi*.

的新菠萝灰粉蚧均能扩增到稳定一致的特异性条带(图 3)，测序结果表明该片段大小为 235 bp，说明新菠萝灰粉蚧种特异引物对不同寄主来源的新菠萝灰粉蚧具有同样的鉴定效果。

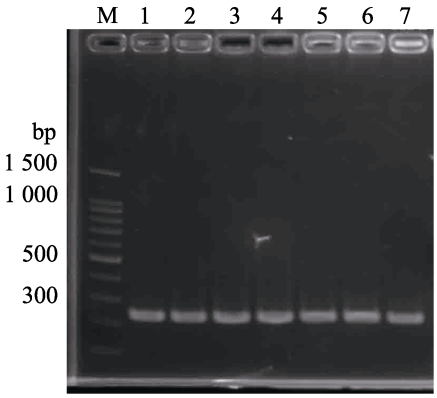

图 3 新菠萝灰粉蚧 28S rDNA 种特异引物对不同寄主来源的新菠萝灰粉蚧扩增

Fig. 3 PCR amplification of *Dysmicoccus neobrevipes* from different hosts plant using 28S rDNA species-specific primers

M：100 bp 标准分子量 100 bp DNA marker；1：中国台湾菠萝 *Ananas comosus* from Taiwan, China；2：红毛丹（旅检截获，航班号 MF868）*Nephelium lappaceum* (intercepted from passenger, flight MF868)；3：红毛丹（旅检截获，航班号 KA604）*Nephelium lappaceum* (intercepted from passenger, flight KA604)；4：菲律宾香蕉（截获时间 2012.9） *Musa nana* from Filipine (intercepted date：2012.9)；5：中国台湾香蕉 *Ananas comosus* from Taiwan, China；6：菲律宾香蕉（截获时间 2012.11）*Musa nana* from Filipine (intercepted date：2012.11)；7：菲律宾香蕉（截获时间 2011.6）*Musa nana* from Filipine (intercepted date：2011.6).

2.4 特异引物扩增的灵敏度检测

提取的单头新菠萝灰粉蚧成虫基因组 DNA 按 10 倍比例稀释，检测结果显示，10^0~10^{-4} 稀释度的模板均能扩增到目的条带，但亮度逐渐减弱，10^{-4} 稀释度的模板扩增的目的条带比较模糊，其他稀释度的模板未扩增出目的条带(图 4)。表明种特异引物及其建立的 PCR 方法对新菠萝灰粉蚧具有较好的检测效果。

3 讨论

新菠萝灰粉蚧在我国最早于 1998 年在海南发生，2006 年开始在广东湛江剑麻发生蔓延。根据覃振强等（2010）对新菠萝灰粉蚧在中国的风险性分析表明该虫是高度危险的检疫性有害生物，傅辽等（2012）利用 CLIMEX 3.0 与 ArcGIs9.3 相结合的方法研究该虫在我国目前以及未来的潜在地理分布，表明该虫在我国的适生范围 18.3^0~27.3^0N，包括海南、广东、广西、云南、福建、江西、浙江等省市。新菠萝灰粉蚧的自身传播范围较小，需借助外界力量进行传播，远距离传播主要是靠寄主植物调运。新菠萝灰粉蚧因与近似种形态相似，增加了鉴定的难度和不确定性。因此，研究其快速、准确识别对开展新菠萝灰粉蚧综合防控等具有重大意义。

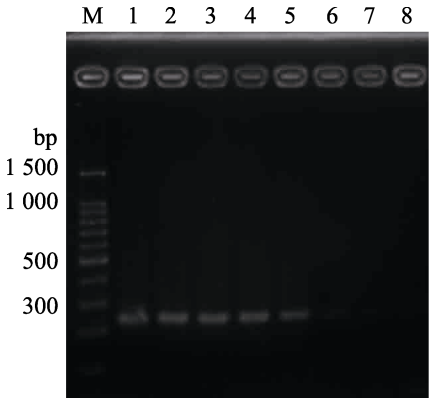

图 4 新菠萝灰粉蚧 28S rDNA 种特异引物的灵敏度检测

Fig. 4 PCR amplification for diluted samples of *Dysmicoccus neobrevipes* a single female adult using 28S rDNA species-specific primers

M：100 bp 标准分子量 100 bp DNA marker；1-8：28S rDNA 种特异引物的灵敏度检测 Sensitive detection of 28S rDNA species-specific primers （1：10^0；2：10^{-1}；3：10^{-2}；4：10^{-3}；5：10^{-4}；6：10^{-5}；7：10^{-6}；8：10^{-7}）.

本文首次报道了在口岸中常截获的新菠萝灰粉蚧等 7 种蚧虫的 28S rDNA 基因部分序列，获得的 28S rDNA 基因片段序列经与 GenBank 中已发布的相关种类对比，相似度达 99%。同时，基于 28S rDNA 的种特异性，设计了一对新菠萝灰粉蚧种特异引物（D. neo-28SF/R），并开发了相应 PCR 检测体系，该对引物仅对新菠萝灰粉蚧具有扩增能力，能扩增出一条清晰的 235 bp 的条带，对菠萝灰粉蚧、李比利氏灰粉蚧、大洋

臀纹粉蚧、橘臀纹粉蚧、杰克贝尔氏粉蚧和腺刺粉蚧 6 种口岸经常截获的近缘粉蚧不具扩增；该引物还具有很高的通用性，对不同寄主来源的新菠萝灰粉蚧均具良好的扩增效果；同时该引物的灵敏度高，当单头成虫提取的 DNA 浓度稀释近万倍时，还能有稳定的扩增条带。

本文开发的新菠萝灰粉蚧 28S rDNA 种特异引物检测技术依据 235 bp 的特异性靶标片段的存在与否来鉴定新菠萝灰粉蚧，而不需要进一步的测序，且新菠萝灰粉蚧 28S rDNA 种特异引物和 PCR 方法，具有快速、可靠、准确、灵敏的特点，因此该技术能实现新菠萝灰粉蚧的快速鉴定。本文报道的新菠萝灰粉蚧分子检测方法将为解决其快速准确鉴定提供新方法难的问题提供了十分重要的途径，对有效阻截其进一步扩张蔓延具有重要实践意义。

参考文献 (References)

Fu L, Huang GS, Li ZH, Wu XX, Kang FF, Lv WC, Fang Y, 2012. The current and future potential geographic distribution of *Dysmicoccus neobrevipes* in China. *Plant Quarantine*, 26(4): 1–5. [傅辽，黄冠胜，李志红，吴杏霞，康芬芬，吕文诚，方焱，2012. 新菠萝灰粉蚧在中国目前及未来的潜在地理分布研究. 植物检疫, 26(4): 1–5.]

He YB, Wang XW, Zhan RL, Sun GM, Liu YB, Xu ZF, Zhao YL, 2011. Genetic relationship of 12 species of mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae) based on DNA sequences. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 32(12): 2324–2330. [何衍彪，万宣伍，詹儒林，孙光明，刘映红，许再福，赵艳龙，2011. 基于 DNA 序列的 12 种粉蚧亲缘关系分析. 热带作物学报，32(12): 2324–2330.]

Penny J, Gullan PJ, Kaydan M, Bora K, Hardy NB, 2010. Molecular phylogeny and species recognition in the mealybug genus *Ferrisia* Fullaway (Hemiptera: Pseudococcidae). *Systematic Entomology*, 35: 329–339.

Qin ZQ, Wu JH, Ren SX, Wang FH, 2010. Risk analysis of alien invasive gray pineapple mealybug (*Dysmicoccus neobrevipes* Beardsley) in China. *Scientia Agricultura Sinica*, 43(3): 626–633. [覃振强，吴建辉，任顺祥，万方浩，2010. 外来入侵害虫新菠萝灰粉蚧在中国的风险性分析. 中国农业科学，43(3): 626–633.]

Rung A, Miller DR, Scheffer SJ, 2009. Polymerase chain reaction-restriction fragmeng length polymorphism method to distinguish three mealybug groups within the *Planococcus citri-P. minor* species complex (Hemiptera: Coccoidae: Pseudococcidae). *Rapid Ccommunications*, 102(1): 8–12.

Saccaggi DL, KrÜger K, Pietersen G, 2008. A multiplex PCR assay for the simultaneous identification of the mealybug species (Hemiptera: Pseudococcidae). *Bulletin of Entomological Research*, 98: 27–33.

Sethusa MT, Millar IM, Yessoufou K, Jacobs A, Bank MVD, 2014. DNA barcode efficacy for the identification of economically important scale insects (Hemiptera: Coccoidea) in South Africa. *African Entomology*, 22(2): 257–266.

Shi JJ, Li HP, Xie YP, Lin YB, Liu YJ, Mao BQ, 2016. Identification of *Dysmicoccus neobrevips* Beardsley and *Dysmicoccus brevipes* (Cockerell) based on molecular marker COI, 28S and 18S. *Plant Quarantine*, 30(3): 48–52. [石晶晶，李惠萍，谢映平，林彦伯，刘艳俊，毛本前，2016. 基于分子标记 COI、28S 和 18S 对新菠萝灰粉蚧与菠萝灰粉蚧的识别鉴定. 植物检疫, 30(3): 48–52.]

Tian H, Li XF, Wan FH, Zhang GF, Zhang JL, 2013. Identification of *Phenacoccus solenopsis* (Hemiptera: Pseudococcidae) with species-specific COI (SS-COI) primers. *Acta Entomological Sinica*, 56(6): 689–696. [田虎，李小凤，万方浩，张桂芬，张金良，2013. 利用种的特异性 COI 引物(SS-COI)鉴别扶桑绵粉蚧. 昆虫学报, 56(6): 689–696.]

Wang YS, Zhou P, Wan FH, Zhang GF, 2016. Validity of DNA barcoding in identification of *Planococcus minor* (Maskell) (Hemiptera: Pseudococcidae), a potential major invasive alien species to China. *Acta Entomologica Sinica*, 59(7): 747–758. [王玉生，周培，田虎，万方浩，张桂芬，2016. DNA 条形码技术对重大潜在入侵害虫大洋臀纹粉蚧的鉴定有效性研究. 昆虫学报, 59(7): 747–758.]

Xu L, Lin W, Huang PY, Zhang WF, Lu XY, Wang Y, Zheng Y, Jiao Y, Lou DF, Yu DJ, 2016. Rapid detection of *Dysmicoccus neobrevipes* and *D. brevipes* (Hemiptera: Pseudococcidae) using Taqman MGB probe. *Plant Quarantine*, 30(4): 38–41. [徐浪，林伟，黄蓬英，张伟锋，卢小雨，汪莹，郑耘，焦懿，娄定风，余道坚，2016. 应用 TaqMan MGB 探针快带检测新菠萝灰粉蚧和菠萝灰粉蚧. 植物检疫, 30(4): 38–41.]

Xu L, Yu DJ, Jiao Y, Xiang CY, Chen ZL, Hu YF, Wang HY, 2013. Molecular identification of *Dysmicoccus neobrevipes* and related species throung DNA barcoding. *Plant Quarantine*, 27(3): 66–69. [徐浪，余道坚，焦懿，向才玉，陈志粦，胡远发，王红英，2013. 新菠萝灰粉蚧及其近似种的 DNA 条形码鉴定. 植物检疫, 27(3): 66–69.]

Xu L, Yu DJ, Jiao Y, Wang YZ, Chen ZL, 2010. TaqMan Real-time qualitative PCR for the inspection and identification of *Planococcus minor* and *P. lilacius* (Homoptera: Pseudococcidae), *Plant Quarantine*, 24(2): 24–27. [徐浪，余道坚，焦懿，王银竹，陈志粦, 2010. 大洋臀纹粉蚧和南洋臀纹粉蚧 TaqMan 实时荧光 PCR 检测方法. 植物检疫, 24(2): 24–27.]