基于 DNA 条形码对北京地区蔷薇科花卉上蚜虫的快速鉴定*

温 娟[1,2] 陈 睿[1,2] 姜立云[1] 乔格侠[1]**

(1. 中国科学院动物进化与系统学重点实验室 北京 100101;
2. 中国科学院大学 北京 100049)

摘 要 蔷薇科花卉植物是北京城市绿化的主要观赏植物,也是多种蚜虫的寄主植物。由于蚜虫体型小,形态特征特化或退化,具有复杂的多型现象,依据传统的形态学特征往往无法实现对物种的准确而快速的鉴定,因此会影响对蚜虫的及时有效防治。本研究应用 DNA 条形码技术,基于 COⅠ 基因序列分析,对北京地区主要蔷薇科花卉上的蚜虫进行编码,试图在花卉种植和害虫防治时用于物种的快速、准确鉴定。实验得到 9 属 12 种蚜虫的 65 条 COⅠ 基因序列,种内平均差异为 0.70%,种间平均差异为 9.45%,最高可达 12.59%。基于 COⅠ 序列构建了 NJ 树和 MP 树,绝大多数物种的样品有效地聚为一支,且支持率达到了 90% 以上,构建的系统发育树可以很好的显示相同物种样品的聚类。结合遗传距离和系统发育树分析表明,基于 COⅠ 序列的 DNA 条形码能有效区分 83% 的北京地区蔷薇科花卉蚜虫物种。

关键词 蚜虫, DNA 条形码, COⅠ, 蔷薇科花卉

Rapid identification of aphids on flowering plants of Rosaceae in Beijing based on DNA barcoding

WEN Juan[1,2] CHEN Rui[1,2] JIANG Li-Yun[1] QIAO Ge-Xia[1]**

(1. Key Laboratory of Zoological Systematics and Evolution, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract Flowering ornamental plants of the Rosaceae family are a major feature of Beijing's gardens but are also host plants for a variety of aphids. It's often difficult to identify aphids rapidly and accurately by traditional methods due to their tiny bodies, degradation and specialization of morphological characteristics, and the occurrence of multiple morphs within single species. We evaluated DNA barcoding based on COⅠ sequences as a means of rapidly identifying the aphids found on Rosaceae flowering plants in Beijing. In this study, 65 COⅠ sequences were sequenced, including 12 species from 9 genera. The average intraspecific divergence was 0.70% whereas interspecific divergence was 9.45% -12.59%. NJ/MP trees based on COⅠ sequences indicated that most samples of the same species clustered together with strong support (bootstrap value > 90%). From the combination of sequence divergences and phylogenetic trees, DNA barcoding reliably identified 83% of the aphid species.

Key words aphid, DNA barcoding, COⅠ, Rosaceae flower plant

蔷薇科 Rosaceae 植物包括具有重要经济价值的果树,如苹果(*Malus pumila*)、梨(*Pyrus* spp.)、桃(*Amygdalus persica*)、杏(*Prunus armeniaca*)、樱桃(*Cerasus pseudocerasus*)、山楂(*Crataegus pinnatifidae*)等,以及具有重要观赏价值的各种花卉,如玫瑰(*Rosa rugosa*)、月季(*Rosa chinensis*)、海棠(*Malus spectabills*)、樱花(*Cerasus yedoensis*)、梅(*Prunus mume*)、蔷薇(*Rosa multiflora*)、棣棠

* 资助项目:国家杰出青年基金(31025024);科技部基础工作专项(2011FY120200);国家基金委动物学特殊学科点(J1210002)和中国科学院动物进化与系统学重点实验室开放课题(0529YX5105)。

** 通讯作者,E-mail:qiaogx@ioz.ac.cn

收稿日期:2012-09-20,接受日期:2012-11-30

(*Kerria japonica*)、红叶李(*Prunus cerasifera*)、各种绣线菊(*Spiraea* spp.)、绣线梅(*Neillia thrysiflora*)、珍珠梅(*Sorbaria sorbifolia*)等,在全世界的庭园植物中均占有重要地位。世界已知蔷薇科植物近3 500种,我国大约55属950余种(Lu *et al.*, 2003)。

蚜虫类Aphidinea昆虫隶属于昆虫纲Insecta半翅目Hemiptera,世界现已知4 700余种(Remaudière and Remaudière, 1997),中国共记载260余属1 000余种。蚜虫靠吸取植物组织的汁液进行取食(张广学和钟铁森,1983),是世界上重要的经济害虫(Teulon and Stufkens, 2002; Foottit *et al.*, 2006; Messing *et al.*, 2007)。蚜虫体型很小,形态特征特化或退化,有效的分类形态特征比较少;具有复杂的多型现象,每个种至少具有2个型,一般全周期蚜虫具有5或6个型,包括干母、干雌、有翅孤雌型、无翅孤雌型、雌性母、雄性母或性母、雌性蚜与雄蚜,有些型还存在多态现象(张广学,1999);其与寄主间还存在复杂的协同进化关系。由于蚜虫形态的相似性和多态性,依据形态特征的鉴定需要具有专业知识与丰富经验的分类学者才能进行,而且还要结合寄主植物等采集信息(Foottit *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2011),即便如此,形态学的鉴定工作也相当困难,重复描述与错误鉴定时有发生。

蚜亚科Aphidinae是物种最为丰富的亚科,占蚜虫总物种数的57%(Remaudière and Remaudière, 1997),该亚科包含了许多部分地或完全以蔷薇科植物为寄主植物的属(Peccoud *et al.*, 2010),蚜族Aphidini和长管蚜族Macrosiphini的大部分物种都是以蔷薇科植物为主要原生寄主,同时蔷薇科植物也是一部分物种的次生寄主植物(Ball and Armstrong, 2006)。并且在白垩纪晚期,伴随着被子植物的繁盛,蚜科Aphididae昆虫在短时期内经历了快速的适应辐射,即快速物种形成事件(Heie, 1967; von Dohlen and Moran, 2000; Peccoud *et al.*, 2010),导致蔷薇科植物上寄生的蚜虫种类明显增多。另外,蔷薇科部分植物也是瘿绵蚜亚科Eriosomatinae、斑蚜亚科Drepanosiphinae的叶蚜族Phyllaphidini和大蚜亚科Lachninae的大蚜族Lachnini部分物种的次生寄主植物(Blackman and Eastop, 2006)。因此,蔷薇科植物上寄生的蚜虫种类很多,仅蔷薇属(*Rosa*)上寄生的蚜虫就有60余种,玫瑰一种植物上寄生的蚜虫种类就有10余种(Blackman and Eastop, 2006)。据统计,我国寄生在蔷薇科植物上的蚜虫涉及31属60余种,在月季、玫瑰、红叶李、桃、杏、樱花等17种蔷薇科花卉植物上寄生的蚜虫就有26属40余种。

蚜虫对蔷薇科花卉的生长、产量与品质都会造成严重的危害。首先,蚜虫吸取植物大量汁液,能造成植物营养恶化、生长缓慢、生长畸形,严重时引起落叶、枯死,降低花卉的产量与品质(图1);其次,蚜虫排泄的蜜露不仅会粘附空气中的灰



图1 蚜虫对蔷薇科花卉植物的为害

Fig. 1 Damage on flowering plants of Rosaceae by aphids

A. 绣线菊蚜 *Aphis spiraecola* Patch 造成海棠叶片卷曲; B. 桃粉大尾蚜 *Hyalopterus pruni*(Geoffroy)寄生于桃树叶背,沿主脉群居(2012年5月13日,摄于中国科学院奥运村园区)。

A: leaf rolls of *Malus micromalus* caused by *Aphis spiraecola*; B: a colony of *Hyalopterus pruni* on *Amygdalus persica*, along the midrib of the under surface of leaves.

尘,还常常引起霉菌滋生,诱发黑霉病(张广学和钟铁森,1983),导致叶片变黑,严重影响花卉的观赏价值;而且,蚜虫还是很多植物病毒的载体(Foottit *et al.*,2008)。因此,蚜虫的有效防治,是提高蔷薇科花卉产量、美化城市环境的重要内容,而快速准确的鉴定为害蚜虫的物种,对于蚜虫的快速检测、有效防治和花卉种植具有指导性的作用。

DNA 条形码技术是一种依据一段基因片段的序列差异来快速区分、鉴定物种的方法(Hebert *et al.*,2003a)。与传统的形态鉴定方法相比,DNA 条形码不会受到生物性别、发育阶段的限制和性状相似性、表行可塑性的影响,不需要具备专业知识的分类学专家就可区分、鉴定物种(Hebert *et al.*,2003b)。尤其是在体型较小、种类繁多的昆虫鉴定上,DNA 条形码可以对处于各个发育阶段的生物型——卵、幼虫、成虫,或死亡个体的残骸进行鉴定,并且不受性别二态性的影响(Floyd *et al.*,2009),具有明显的优势和应用价值。本研究对北京地区主要蔷薇科花卉植物上的 9 属 12 种蚜虫的 COⅠ序列进行了分析,试图在花卉种植和害虫防治时用于物种的快速、准确鉴定。

1　材料与方法

1.1　材料

研究材料均采自北京地区蔷薇科花卉上,共计 65 号样品,涉及 9 属 12 种,其中月季长管蚜 *Sitobion rosivorum* (Zhang) 仅具有一个样品,其余 11 个物种至少具有 2 个以上的样品;涉及蔷薇科花卉植物 6 属 11 种(样品信息见表 1)。所有标本浸泡于 75% 或 95% 酒精中,存放在中国科学院动物研究所国家动物博物馆(中国,北京)(ZMCAS);其中,95% 酒精浸泡标本用于分子实验,75% 酒精浸泡标本用于制作玻片标本。

1.2　方法

1.2.1　DNA 提取、PCR 扩增和序列测定　95% 酒精浸泡的蚜虫标本用于分子实验,按照 CTAB 法的步骤稍作改进提取单个蚜虫基因组 DNA。本研究选用线粒体基因细胞色素氧化酶Ⅰ亚基(COⅠ)基因部分序列作为分子标记,其扩增引物为文献引物 LEP-F、LEP-R(Foottit *et al.*,2008)和 LCO1490、HCO2198(Folmer *et al.*,1994),2 对引物均用于扩增 COⅠ基因 3′端约 700 bp 的片段,引物详细信息见表 2。PCR 扩增体系为 30 μL 体系,具体包括:3 μL 的 10 × Buffer (+Mg^{2+}),2.4 μL 的 dNTPs (2.5 mmol/L),20 μL 的 DDW,0.4 μL 的 *Taq* DNA 聚合酶,3 μL 的 DNA 模板,正反引物各 0.6 μL。扩增反应在 Eppendorf AG 22331 型梯度 PCR 仪上进行,反应条件为 95℃ 预变性 2 min;95℃ 变性 30 s,46 ~ 50℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 1 min,35 个循环;最后 72℃ 终延伸 10 min。PCR 产物保存于 4℃,1% 琼脂糖凝胶电泳检测(140 V,30 min)。电泳结束后,在紫外灯下观察电泳结果。PCR 产物由北京六合华大基因科技股份有限公司和北京蓝博斯特生物技术有限公司进行纯化和测序。测序反应用相应的扩增产物,在 ABI 3730 型自动测序仪(Applied Biosystem,USA)上进行。

1.2.2　序列分析和系统发育树的构建　通过 Seqman 5.01(DNASTAR,Inc. 1996)软件进行双向测序结果的拼接,并用 DNAMAN 5.2.2(Lynnon Biosoft,Quebec,Canada)软件检验拼接后的序列是否能正确翻译为蛋白质,以确保序列的正确性。运用 MEGA 4.0(Tamura *et al.*,2007)对序列进行多重比对,并分析核酸组成。序列饱和性分析通过 DAMBE 程序(Xia and Xie,2001)进行,以转换、颠换为纵轴,以 TN93 模型(Tamura and Nei,1993)校正的距离为横轴做散点图。如果这些点随序列间分歧增大呈线性分布就说明序列间替换没有达到饱和,序列可以用于后续的系统发育分析。

基于 K2P 模型(Kimura-2-parameter distance)(Kimura,1980),应用 MEGA 4.0 软件计算序列差异分析、构建 NJ 树(Neighbour-Joining tree),并应用 SPSS 软件(Inc. SPSS)计算各差异频次,绘制频次图。应用 PAUP * 4.0 软件(Swofford,2002),构建最大简约树(maximum parsimony tree),并对各分支节点进行 bootsrap 检验(检测 1 000 次,每次检测随机加样重复 100 次)。

2　结果与分析

2.1　COⅠ序列数据及饱和性分析

实验获得 65 条 COⅠ序列,涉及到蚜虫 9 属 12 种,经 Seqman 比对后得到 658 bp。其中,保守位点 488 个,可变位点 170 个,简约信息位点 159 个。碱基平均含量为 40.8% T、14.1% C、34.9% A、10.2% G,存在明显的 A、T 碱基偏好性。

应用 DAMBE 程序对序列进行了饱和性分析,

表 2 实验用 COⅠ 序列扩增引物信息

Table 2 Information on mitochondrial COⅠ primers in this study

基因 Gene	引物名称 Primers	引物序列(5′-3′) Primer sequences	来源 Source
COⅠ	LepF	ATTCAACCAATCATAAAGATATTGG	Foottit *et al.*, 2008
COⅠ	LepR	AAACTTCTGGATGTCCAAAAAATCA	
COⅠ	LCO1490	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG	Folmer *et al.*, 1994
COⅠ	HCO2198	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	

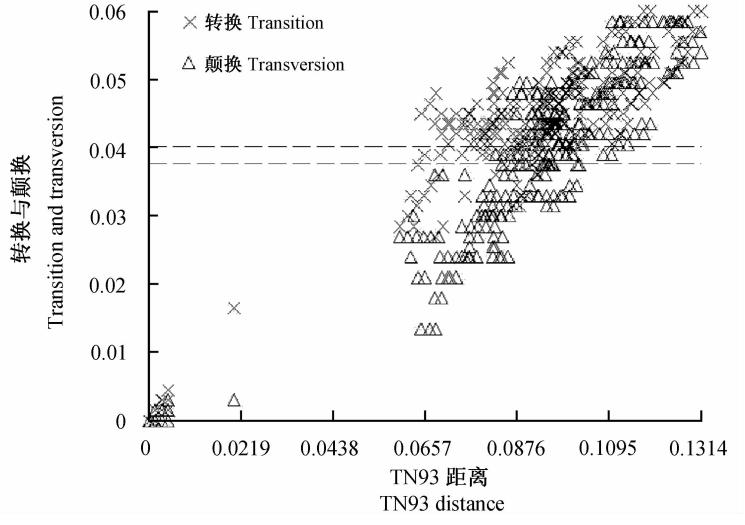


图 2 基于 658 bp 线粒体基因 COⅠ 的序列饱和性分析散点图

Fig. 2 Saturation plots for the mitochondrial COⅠ sequences with 658 bp

两两序列间转换、颠换数对 TN93 模型校正的距离做散点图，虚线分别表示转换和颠换的平均值。

The number of transitions and transversions of each pairwise comparison of taxa are plotted against the TN93 model corrected distance. The broken lines show the mean value of transition and transversion respectively.

以转换、颠换为纵轴，以 TN93 模型校正的距离为横轴做散点图(图 2)。如图 2 所示，序列间转换、颠换数随距离增加呈线性增长趋势，未表现出饱和态势，所以 658 个位点都被用于后续的分析。

2.2 系统发育树结构分析

基于邻接法和最大简约法分别构建了 NJ 树(图 3)和 MP 树(图 4)，如图 3 和图 4 所示，NJ 树与 MP 树的拓扑结构基本一致。从树中可以看出，除绣线菊蚜 *Aphis spiraecola* 与苹果蚜 *Aphis pomi* 混杂在一起，其他各物种的样品都有效的聚集在一起，只具一个样品的月季长管蚜也以较高的支持率与其他物种分开；长管蚜族 Macrosiphini 和蚜族 Aphidini 的样品分别形成单系，构成姐妹群。且在分支树的端部，各聚在一起的物种的支持率都较高(NJ 树 bootsrap 支持率 100%；MP 树 bootsrap 支持率≥98%)。

2.3 序列差异分析

对实验所得的 65 条 COⅠ 序列的两两间序列差异进行了计算与统计，共 2 080 对，平均差异为 8.41%，SD = 3.39%，范围为 0 ~ 12.56%。图 5 为除去绣线菊蚜和苹果蚜样品后，绘制的序列差异频次图，差异主要集中在 0 ~ 0.50% 和 6.00% ~ 12.50% 范围内，分别有 205 和 1 814 对序列差异，种内序列差异和种间序列差异之间形成了明显的“barcoding gap”。

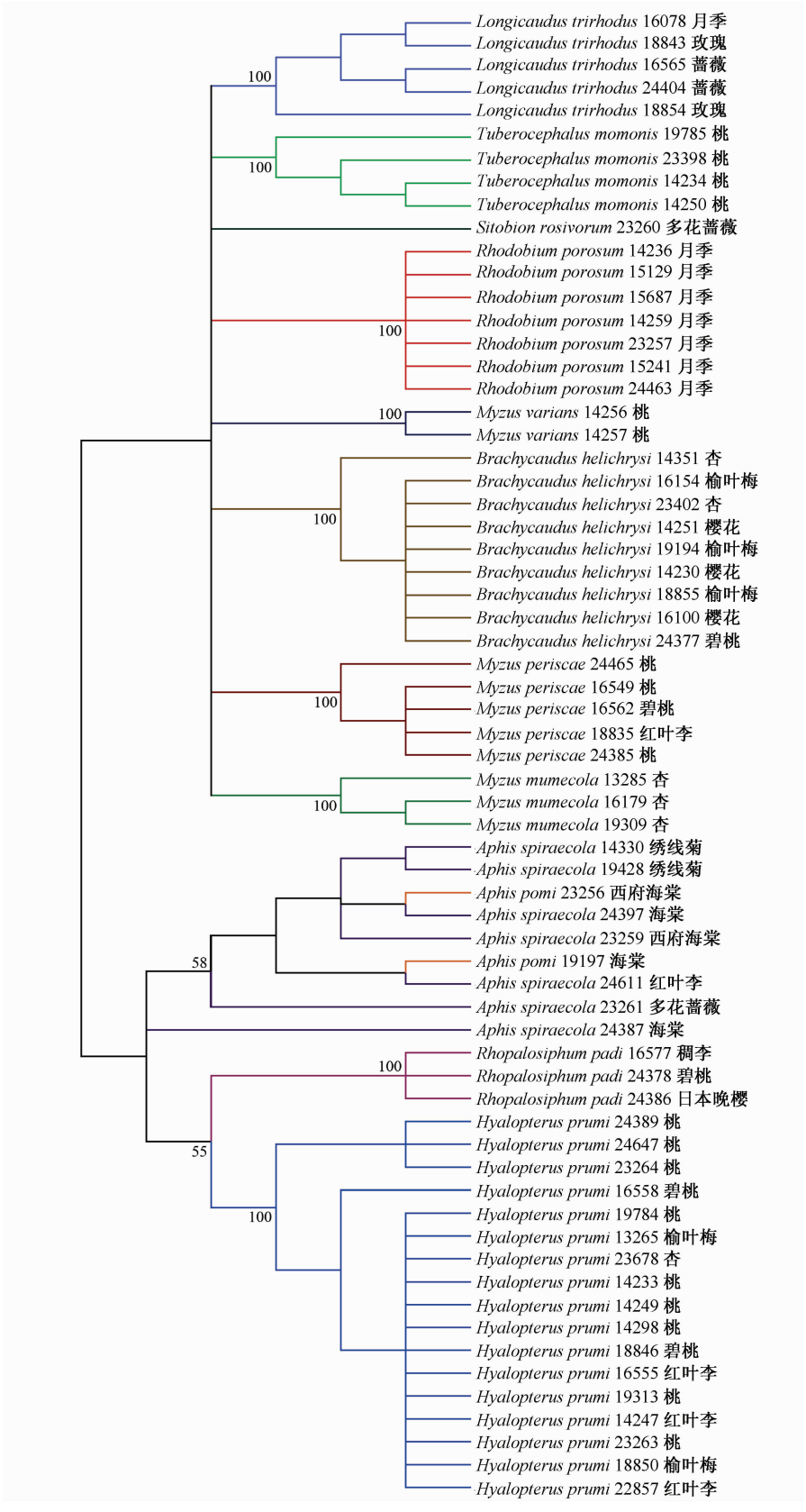


图 3　基于 CO1 序列和 K2P 模型构建的 NJ 树,自举检验支持率标在分支左侧

Fig. 3　Neighbour-Joining (NJ) tree based on CO1 sequences and Kimura-2-parameter model with bootstrap percentages shown on left

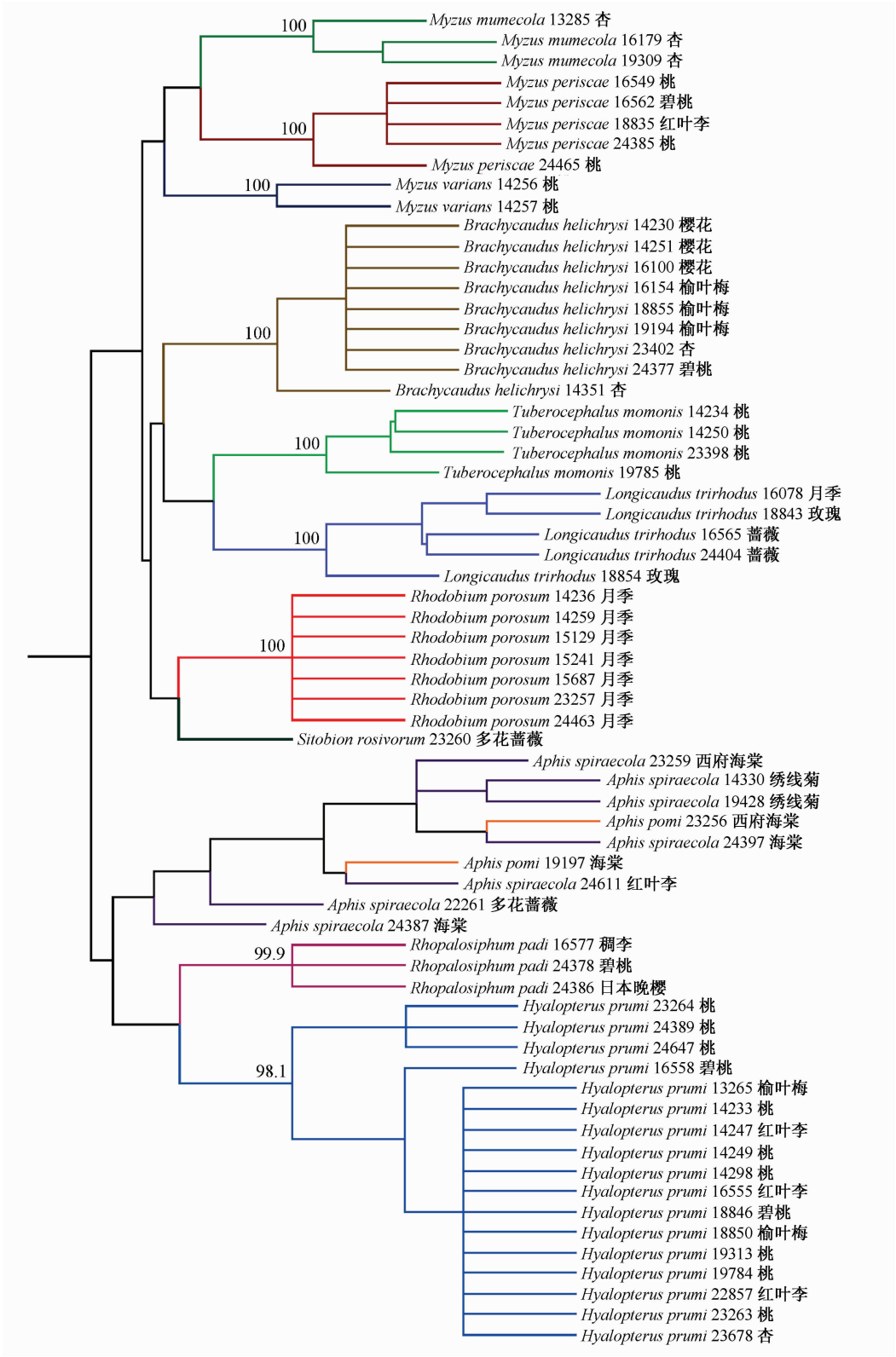


图 4　基于 COI 序列构建的 MP 树

Fig. 4　MP tree based on COI sequences

MP 自举检验的支持率(>50%)标注在分支左侧一致性指数 CI = 0.511749,保留指数 RI = 0.914063,校正一致性指数 RC = 0.467771,步长 383。

Bootstrap percentages from maximum parsimony (50% and greater) shown on left (CI = 0.511749, RI = 0.914063, RC = 0.467771), and tree length = 383.

表 3　各种种内序列差异

Table 3　Mean and range of intraspecific nucleotide divergences

物种 Species	样品数 No. of individuals	平均差异(%) Mean divergence(%)	范围(%) Range(%)
蔷无网蚜 *Rhodobium porosum*	7	0.00 ± 0.00	0
桃瘤头蚜 *Tuberocephalus momonis*	4	0.23 ± 0.16	0 – 0.46
黄药子瘤蚜 *Myzus varians*	2	0	0
李短尾蚜 *Brachycaudus helichrysi*	9	0.03 ± 0.06	0 – 0.15
月季长尾蚜 *Longicaudus trirhodus*	5	0.27 ± 0.16	0 – 0.46
禾谷缢管蚜 *Rhopalosiphum padi*	3	0.00 ± 0.00	0
桃粉大尾蚜 *Hyalopterus pruni*	17	0.64 ± 0.92	0 – 2.01
桃蚜 *Myzus persicae*	5	0.06 ± 0.08	0 – 0.15
杏瘤蚜 *Myzus mumecola*	3	0.10 ± 0.09	0 – 0.15
绣线菊蚜 *Aphis spiraecola*	7	3.88 ± 3.57	0 – 7.89
苹果蚜 *Aphis pomi*	2	0.46	0.46

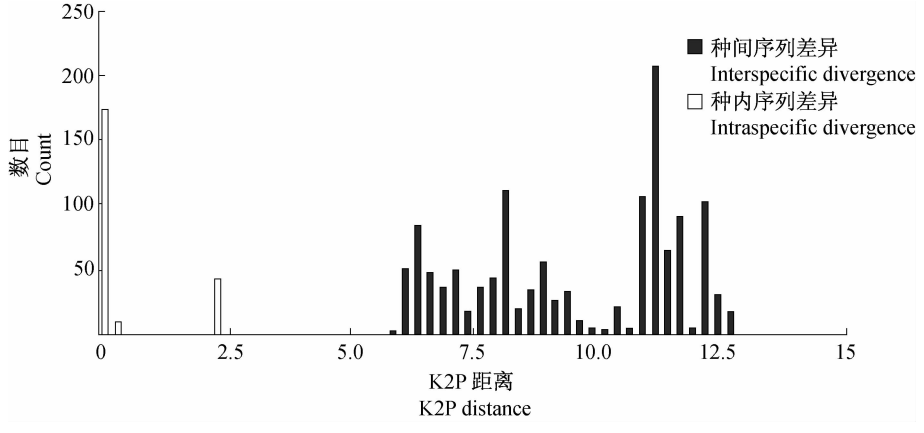


图 5　基于线粒体 COI 658 bp 序列和 K2P 距离的序列差异频次图(除绣线菊蚜和苹果蚜)

Fig. 5　Histogram of genetic divergence using mitochondrial COI 658 bp sequences, divergences were calculated using Kimura's two parameter (K2P) model (except *A. spiraecola* and *A. pomi*)

2.3.1　种内序列差异　种内序列差异共 249 对(11 种(≥2 样品),共 64 个样品),Mean = 0.70%,SD = 1.58%,Min = 0.00%,Max = 7.89%。绣线菊蚜的种内差异比较大,平均 3.88%,最高可达 7.89%。我们在去除绣线菊蚜和苹果蚜后,得到的种内序列差异共 226 对,mean = 0.41%,SD = 0.77%,Min = 0.00%,Max = 2.01%。具体各种的种内差异见表 3。

2.3.2　种间序列差异　种间序列差异共 1 832 对(共 12 种,65 个样品),mean = 9.45%,SD = 1.90%,Mix = 0.00%,Max = 12.59%。去除绣线菊蚜和苹果蚜的样品后,计算得 1 314 对种间序列差异,mean = 9.51%,SD = 2.05%,Min = 5.85%,Max = 12.59%。其中,瘤蚜属 *Myzus* 的样品包含 3 个种,属内种间序列差异有 31 对,mean = 7.62%,Min = 6.55%,Max = 8.25%。

3　讨论

本研究整理了北京地区月季、玫瑰、多花蔷薇、桃、杏、榆叶梅(*Amygdalus triloba*)、樱花、海棠、绣线菊、红叶李、稠李(*Prunus padus*)11 种蔷薇科花卉上寄生的 9 属 12 种蚜虫。这些花卉植物覆盖了蔷薇科的 4 个亚科——蔷薇亚科 Rosoideae、李亚科 Prunoideae、苹果亚科 Maloideae 和绣线菊亚科 Spiraeoideae,但集中于 5 个属——蔷薇属(*Rosa*)、桃属(*Amygdalus*)、李属(*Prunus*)、苹果属(*Malus*)和绣线菊属(*Spiraea*)。为害最严重的是桃属和李属的花卉植物,均有 6 种蚜虫寄生。其

中,仅为害桃树的蚜虫物种就达到了 6 种,其他花卉植物也有 2 种或 2 种以上的蚜虫寄生。而这些数据也仅局限在本研究的取样范围。据统计,我国寄生在蔷薇科植物上的蚜虫 5 科 31 属 60 余种,寄生在花卉植物上的蚜虫也达到了 40 余种。因此,在花卉种植与害虫防治时,快速、准确的区分出为害蚜虫物种,对于及时控制虫害、有效预防蚜虫具有指导作用。

采自北京地区蔷薇科花卉上的 12 个蚜虫物种的种内平均差异为 0.41%,最大为 2.01%,而种间序列平均差异为 9.51%,最小值也达到了 5.85%,远远超过了最大种内差异(去除绣线菊蚜与苹果蚜样品)。这与其他研究已经得到的结果相差不大(Foottit *et al.*, 2008; Lee *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2011);与其他无脊椎动物类群也基本相似,如蜘蛛种内差异 1.4%、种间差异 16.4%(Barrett and Hebert, 2005),鳞翅目 3 个不同科的种内差异分别为 0.17%、0.43%、0.46%,对应的种间差异为 4.58%、4.41%、6.02%(Hajibabaei *et al.*, 2006),蜉蝣目种内差异 1%、种间差异 18.1%(Ball *et al.*, 2005),膜翅目种内差异 0 ~ 1.1%、种间差异 7.2% ~ 19.4%(Li *et al.*, 2010)。此外,同物种不同地理种群间的差异很小,如桃粉大尾蚜 *Hyalopterus pruni* 的 17 个样品,分别来自 11 个不同的地理种群,其种群间的平均序列差异仅为 0.69%;即使是寄生在同一地点、同种植物上的不同物种也得到了有效区分,如采自北京海淀区中关村地区桃树上的桃粉大尾蚜 *Hyalopterus pruni*、桃瘤头蚜 *Tuberocephalus momonis* 和黄药子瘤蚜 *Myzus varians* 3 个物种 8 个样品的种间平均序列差异为 10.71%,范围为 7.54% ~ 12.21%。在系统发育树中,除绣线菊蚜和苹果蚜外的物种样品也均以很高的支持率聚为一支,83% 的物种都得到了有效的区分。

DNA 条形码技术自 2003 年提出后,广泛应用于原核生物、真菌、动植物等生物类群,而 COⅠ 基因作为条形码区分物种的效力也得到了充分的验证与审视。在不同的动物类群中,COⅠ 基因作为条形码的解决效力也是不同的。例如,Barrett 和 Hebert(2005)对 168 种蜘蛛和 35 种其它蛛形纲物种的 COⅠ 序列进行分析,所有的物种都得到了有效的区分。Hubert 等(2008)应用 COⅠ 基因成功区分了 190 种加拿大淡水鱼中 93% 的物种。但是,Meier 等(2006)在双翅目的 DNA 分类研究中,发现 COⅠ 基因区分双翅目物种(共 449 种)的成功率还不到 70%。而对于蚜虫类群,Foottit 等(2008)、Lee 等(2011)和 Wang 等(2011)的研究均显示出了 COⅠ 基因的高解决效力。在本研究中,绝大多数(83%)的物种能明显地区分开,再次证明了 COⅠ 基因作为条形码区分蚜虫物种的可行性。

在 NJ 树和 MP 树中,绣线菊蚜与苹果蚜混杂在一起,2 个苹果蚜样品分散在绣线菊蚜样品中,没有明显分开。并且,绣线菊蚜的种内平均序列差异为 3.88%,最高可达 7.89%,已超过了 Lee 等(2011)得到的蚜属 *Aphis* 内种间平均遗传距离(5.84%)。而绣线菊蚜与苹果蚜二者的种间平均序列差异为 3.48%,小于同属其他物种的种间序列差异。绣线菊蚜和苹果蚜同属蚜属 *Aphis* 绣线菊蚜种团,其在形态特征上就极其相似,仅在身体背片上的网纹和腹部背片缘瘤有细微差异(绣线菊蚜体背网纹明显,腹部背片Ⅰ和Ⅶ具缘瘤;苹果蚜体背网纹不明显,腹部背片Ⅰ~Ⅳ和Ⅶ具缘瘤);寄主植物也很相似,都寄生在苹果属、梨属和绣线菊、海棠等花卉上(张广学, 1999),因此这 2 个物种经常存在混淆(Blackman and Eastop, 2000; Foottit *et al.*, 2009)。鉴于形态和分子数据,可以推断绣线菊蚜与苹果蚜的物种界定存在一定问题。但由于本研究所涉及的 2 个物种的样品数很少,还需要增加分子数据的样品量,并结合形态学、生物学等信息来加以验证。

DNA 条形码作为简单快速的鉴定系统已经应用到了生物入侵种的检测(Armstrong and Ball, 2005)、害虫的防治(Blackman and Eastop, 2006)、法医昆虫学(Boehme *et al.*, 2011)、生物多样性保护(Krishnamurthy and Francis, 2012)等多个领域。本研究对北京地区主要蔷薇科花卉上的蚜虫进行了编码,将 DNA 条形码技术应用到花卉种植与害虫防治中。在实际的花卉种植与保护过程中,如果遇到蚜虫为害情况,就可依据本研究建立的条形码数据库准确、快速地鉴定出为害蚜虫种类,再根据鉴定结果有针对性地展开防治措施,这将大大提高蚜虫的防治效率,节约防治成本,并对花卉的种植、城市的建设和环境的美化做出重大贡献。

致谢:方燕、李星怡、刘虹、黄晓磊、王彦青、王哲、

徐天公、杨晋宇、郁娟娟、张东、张合彩、张宏顺、张彦周为本研究采集样品,杨分地帮助制作玻片标本,在此一并表示诚挚的谢意。

参考文献(References)

Armstrong KF, Ball SL, 2005. DNA barcodes for biosecurity: invasive species identification. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 360 (1462):1813 – 1823.

Ball SL, Armstrong KF, 2006. DNA barcodes for insect pest identification:a test case with tussock moths (Lepidoptera: Lymantriidae). *Can. J. For. Res.*, 36(2):337 – 350.

Ball SL, Hebert PDN, Burian SK, Webb JM, 2005. Biological identifications of mayflies (Ephemeroptera) using DNA barcodes. *J. North. Am. Benthol. Soc.*, 24(8):508 – 524.

Barrett RDH, Hebert PDN, 2005. Identifying spiders through DNA barcodes. *Can. J. Zool.*, 83(3):481 – 491.

Blackman RL, Eastop VF, 2000. Aphids on the World's Crops:An Identification and Information Guide, 2nd edn. Chichester:John Wiley and Sons Limited. 466.

Blackman RL, Eastop VF, 2006. Aphids on the world's herbaceous plants and shrubs. Chichester: John Wiley and Sons Limited. 1439.

Boehme P, Amendt J, Zehner R, 2011. The use of COI barcodes for molecular identification of forensically important fly species in Germany. *Parasitol. Res.*, 110 (6):2325 – 2332.

Floyd RM, Wilson JJ, Hebert PDN, 2009. DNA barcodes and insect biodiversity//Foottit RG, Adler PH (eds.). Insect Biodiversity: Science and Society. Oxford: Wiley-Blackwell. 417 – 432.

Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R, 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*, 3(5):294 – 299.

Foottit RG, Halbert SE, Miller Gl, Maw E, Russell LM, 2006. Adventive aphids (Hemiptera: Aphididae) of America North of Mexico. *Proc. Entomol. Soc. Wash.*, 108(3):583 – 610.

Foottit RG, Lowery DT, Maw HEL, Smirle MJ, Lushai G, 2009. Identification, distribution and molecular characterization of the apple aphids *Aphis pomi* and *Aphis spiraecola* (Hemiptera: Aphididae: Aphidinae). *Can. Entomol.*, 141(5):478 – 495.

Foottit RG, Maw HEL, von Dohlen CD, Hebert PDN, 2008. Species identification of aphids (Insecta: Hemiptera: Aphididae) through DNA barcodes. *Mol. Ecol. Res.*, 8 (6):1189 – 1201.

Hajibabaei M, Janzen DH, Burns JM, Hallwachs W, Hebert PDN, 2006. DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera. *PNAS*, 103(4):968 – 971.

Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR, 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 270(1512):313 – 321.

Hebert PDN, Ratnasingham S, de Waard JR, 2003b. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proc. R. Soc. Lond. B*, 270(Suppl 1):S96 – S99.

Heie OE, 1967. Studies on fossil aphids (Homoptera: Aphidoidea) Especially in the Copenhagen collection of fossils in Baltic amber. *Spolia Zool. Mus. Haun.* (*Copenhagen-Arhus*), 26:1 – 274.

Hubert N, Hanner R, Holm E, Mandrak NE, Taylor E, Burridge M, Watkinson D, Dumont P, Curry A, Bentzen P, Zhang J, April J, Bernatchez L, 2008. Identifying Canadian freshwater fishes through DNA barcodes. *PLoS ONE*, 3:e2490.

Kimura M, 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.*, 16:111 – 120.

Krishnamurthy PK, Francis RA, 2012. A critical review on the utility of DNA barcoding in biodiversity conservation. *Biodivers. Conserv.*, 21(8):1901 – 1919.

Lee W, Kim H, Lim J, Choi HR, Kim Y, Kim YS, Ji JY, Foottit RG, Lee S, 2011. Barcoding aphids (Hemiptera: Aphididae) of the Korean Peninsula: updating the global data set. *Mol. Ecol. Resour.*, 11(1):32 – 37.

Li YW, Zhou X, Feng G, Hu HY, Niu LM, Hebert PDN, Huang DW, 2010. COI and ITS2 sequences delimit species, reveal cryptic taxa and host specificity of fig-associated *Sycophila* (Hymenoptera, Eurytomidae). *Mol. Ecol. Resour.*, 10(1):31 – 40.

Lu LD, Gu CZ, Li CL, Alexander C, Bartholomew B, Brach AR, Boufford DE, Ikeda H, Ohba H, Robertson KR, Spongberg SA, 2003. Rosaceae // Wu ZY, Raven PH (eds.). Flora of China. Beijing:Science Press, St. Louis: Missouri Botanical Garden Press. 46 – 434.

Meier R, Shiyang K, Vaidya G, Ng PKL, 2006. DNA barcoding and taxonomy in Diptera: a tale of high intraspecific variability and low identification success. *Syst. Biol.*, 55(5):715 – 728.

Messing RH, Tremblay MN, Mondor EB, Foottit RG, Pike KS, 2007. Invasive aphids attack native Hawaiian plants.

Biol. Invasions, 9:601 – 607.

Peccoud J, Simon JC, von Dohlen C, D'acier AC, Plantegenest M, Masutti FV, Jousselin E, 2010. Evolutionary history ofaphid-plant associations and their role in aphid diversification. *C. R. Biologies*, 333(6/7):474 – 487.

Remaudière G, Remaudière M, 1997. Catalogue of the World's Aphididae. Homoptera Aphidoidea. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris. 473.

Swofford DL, 2002. PAUP *. Phylogenetic analysis using parsimony (* and other methods), version 4. MA, Sinauer Associates, Sunderland.

Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S, 2007. MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol. Biol. Evol.*, 24(8):1596 – 1599.

Tamura K, Nei M, 1993. Estimation of the number nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.*, 10(3):512 – 526.

Teulon DAJ, Stufkens MAN, 2002. Biosecurity and aphids in New Zealand. *NZ Plant Prot.*, 55:12 – 17.

von Dohlen CD, Moran NA, 2000. Molecular data support a rapid radiation of aphids in the Cretaceous and multiple origins of host alternation. *Biol. J. Linn. Soc.*, 71(4): 689 – 717.

Wang JF, Jiang LY, Qiao GX, 2011. Use of a mitochondrial COⅠ sequence to identify species of the subtribe Aphidina (Hemiptera, Aphididae). *ZooKeys*, 122:1 – 17.

Xia XH, Xie Z, 2001. DAMBE: Data analysis in molecular biology and evolution. *J. Hered.*, 92:371 – 373.

张广学, 1999. 西北农林蚜虫志:昆虫纲、同翅目、蚜虫类. 北京:中国环境科学出版社. 1 – 563.

张广学, 钟铁森, 1983. 中国经济昆虫志 第二十五册 同翅目:蚜虫类(一). 北京:科学出版社. 1 – 387.

* * * \