



## 外来入侵物种—混点迪氏粉蚧 形态学和 DNA 条形码鉴定

赵朗

Recommended: 王德奎 (Wang Dekui), 绵阳日报社, 绵阳, 四川 621000, 中国, [y-tx@163.com](mailto:y-tx@163.com)

摘要: 本研究最初是从市场上购买鲜切花中发现的一种无法鉴别的粉蚧而开展的。本文通过形态学和 DNA 条形码技术, 利用 mDNA *COI* 基因和 rDNA *28S* 序列构建粉蚧 NJ 系统发育树, 最终确定该粉蚧为混点迪氏粉蚧 *Delottococcus confuses*。该粉蚧原产于南非, 是山龙眼科植物的重要害虫, 由于也能危害柑橘, 其已经被多国列为禁止进境物种。截止 2021 年, 我国的柑橘种植面积超过 3926 万亩, *Delottococcus* 属物种的侵入将会严重威胁我国柑橘产业发展。由于粉蚧体型小, 易隐藏, 极易通过山龙眼科植物的鲜切花传播, 这就需要我们应该加强对苗木切花和水果进行检疫, 防止有害生物传入我国, 危害我国农林业生态安全。

[赵朗. 外来入侵物种—混点迪氏粉蚧形态学和 DNA 条形码鉴定. *Academ Arena* 2023;15(3):38-57].ISSN1553-992X (print); ISSN2158-771X (online). <http://www.sciencepub.net/academia>.06.doi:[10.7537/marsaaj150323.06](https://doi.org/10.7537/marsaaj150323.06).

关键词: 针垫花, 混点迪氏粉蚧, 形态学鉴定, DNA 条形码, 南非, 鲜切花, 系统进化树

## 目录

1. 前言.....	40
1.1 粉蚧概述.....	40
1.2 粉蚧科昆虫的形态学特征.....	40
1.3 粉蚧科昆虫分子鉴定.....	43
2. 材料与方法.....	43
2.1 材料来源.....	43
2.2 仪器、器材与试剂.....	44
2.3 玻片标本制作.....	44
2.4..... DNA 提取、扩增与序列比对	45
3 结果.....	46
3.1 形态学鉴定.....	46
3.2 分子生物学鉴定.....	49
3.3 名称与分类地位.....	53
3.4 地理分布与寄主植物.....	53
3.5 生物学特性.....	53
4 讨论.....	53
5 展望.....	54
6 参考文献.....	54
7 选题灵感来源.....	56
8 每位作者在本课题研究中的贡献.....	57
9 答谢.....	57

## 1. 前言

### 1.1 粉蚧概述

粉蚧科 Pseudococcidae, 其拉丁科名源于模式属 *Pseudococcus* Westwood (1840), 隶属于半翅目 Hemiptera 蚧总科 Coccoidea。该科是蚧总科的第 2 个大科, 有超过 2000 个种, 约 290 个属, 有超过 160 个属的粉蚧在世界范围内被认为是有害生物<sup>[1]</sup>。据《中国动物志》统计, 我国记录 142 余种, 隶属 56 属<sup>[2]</sup>。该科昆虫是一类危害大、分布广的世界性害虫, 除南北极之外世界各地均有分布, 可危害植物的根、茎、叶等。依据食性不同, 将其分为杂食性、寡食性和专食性昆虫。粉蚧科昆虫组织结构高度特化, 除 1 龄若虫可爬动, 其余龄期昆虫几乎终生不再移动, 以刺吸式口器固定在寄主植物上取食汁液, 导致寄主植物萎焉, 同时分泌的蜜露引发霉菌次生侵染, 导致植物落叶、落果甚至植株枯死; 更有甚者有些粉蚧可以传播植物病毒, 如灰粉蚧属能传播凤梨凋萎病毒<sup>[3]</sup>, 进而产生更大的危害, 引发更大经济损失。此外, 粉蚧科虫体微小, 常在叶鞘、花萼、叶背、茎秆、根部等部位取食, 隐蔽性强, 田间危害不易察觉, 常突然爆发成灾害, 使栽培作物、果树、花卉受到严重危害, 造成巨大经济损失。

粉蚧的英文名称为 mealybugs, 为 McPhail(1908) 首次提出, 因其体表常被一层白蜡层。粉蚧一般为卵生, 但也有一些粉蚧如灰粉蚧 (*Dysmicoccus* sp.) 或泡粉蚧 (*Puto* sp.) 是卵胎生。卵生的单头雌虫产卵量大约 500 粒, 而卵胎生的单头雌虫产卵量则可达 1000 粒<sup>[4]</sup>。粉蚧科昆虫属于不完全变态的类型, 雌虫和雄虫的发育具有不同的特点: 雌性若虫常经历 3 个龄期, 其形态与成虫基本相似, 若虫与成虫的区别是阴门有无, 雌性成虫喜固定取食; 雄性若虫则需经历 2 个龄期, 期间与雌性若虫形态相似, 但至 2 龄后期虫体变长, 体外被蜡丝形成柱形或椭圆形的茧, 在茧内虫体分化出头、胸、腹, 出现翅芽和雄性交配器的雏形, 经过一次蜕皮, 进入 4 龄期, 完成变态发育, 而后再次蜕皮后羽化为雄性成虫, 雄性成虫常迁飞, 不固定取食<sup>[5]</sup>。

### 1.2 粉蚧科昆虫的形态学特征

粉蚧科昆虫个体微小, 雌虫和雄虫形态特征存在显著差异: 雌虫无翅, 雄虫有翅<sup>[6]</sup>; 雌虫长期滞留危害, 生命周期长; 雄虫生命周期短 (3 天左右), 因而粉蚧雄成虫个体在野外调查中很难被发现, 只能通过室内饲养方式获得。为了便于形态学鉴定统一, 粉蚧形态学鉴定往往依赖于长生命周期、滞留发生危害的雌性成虫。粉蚧科形态学鉴定常用术语及模式图见图 1。术语定义依据汤昉德 (1992)<sup>[4]</sup>、Williams (2004)<sup>[7]</sup>。

**触角 (antennae):** 着生于头部顶端腹面两侧边缘, 呈长丝状或细索状, 一般在 6-9, 最多可达 11 节。触角第 1 节常短粗, 第 2 节、第 3 节和端节可能是整个触角中最长的节。有的种类的触角某 1 节有关节, 随着个体的不同从关节处断为明显的两节; 有的种类触角退化, 或简化至 2-3 节, 呈瘤状。触角每节常生有数根细毛, 在第 2 节上通常具有一个明显的圆盘状小孔, 在端节上常生有数根感觉毛, 有时这些感觉毛生于端节之前。

**眼 (eye):** 为单眼, 1 对, 着生在触角后之头缘, 有的仅为眼点, 有的眼座呈锥状, 有的种类眼退化或至无眼。眼常呈圆形或球形, 有些属的眼旁常有圆孔相伴, 成为伴孔 (discoidal pores)。

**口器 (mouth part):** 正常发育, 由基片 (唇基 clypeolabral shield)、喙 (下唇 labium) 和口针 (stylet) 三部分组成。喙圆锥形常分为 1-3 节, 其顶端生有数根细毛, 整个喙均呈一定程度的硬化。口针常 4 根, 其中两根较细的在内合成食管和唾液管, 为下颚口针; 另外两根口针较粗, 包在其外, 称为上颚口针。这 4 根口针细长而坚硬, 卷曲地藏于中、后胸的特殊袋状结构中。喙一般位于二前足或二前胸气门之间。

**足 (legs):** 为胸足, 分为前足、中足和后足, 分别长在前胸、中胸和后胸上。每个足常具 6 部分, 分别为基节、转节、股节、胫节、跗节和爪。基节通常为不规则的截面圆锥体, 生有数根细毛, 有时有圆而透明的孔, 显微镜下表现为在硬化节面上小而圆的

“亮斑”，称为透明孔 (translucent pores)。转节近三角形，有时为长形，常有两个或数个成对的圆盘状孔，少数孔内有格眼。股节常粗壮。胫节通常细长，端部常生有粗且硬化的二根距。跗节端部有细长的二根毛，称为跗冠毛 (tarsal digitules)。爪稍弯曲，在下侧常有一齿状突起，称为“小齿” (claw denticle)，在爪的基部下具有 2 根长毛称为爪冠毛 (claw digitules)，爪冠毛顶端有的尖锐，也有的呈球状膨大。

**气门 (thoracic spiracle)**: 为胸气门，二对，分为前气门和后气门，常为喇叭状。在气门附近常分布有盘腺。

**体毛 (setae)**: 长度和粗度不一，分布在虫体背、腹两面，腹面毛常较长，尤以阴门前成对的毛及触角间的毛和肛位毛 (肛门的腹面) 为长。

**背孔 (ostioles)**: 其为着生在虫体背面一个横裂如嘴唇状的构造，有 2 片孔瓣，瓣上有三格腺和刚毛 (seta)，瓣缘有时硬化。背孔常为两对，少数只具一对。背孔按着生位置的不同可分为前背孔 (anterior ostiole) 和后背孔 (posterior ostiole)。前背孔生在前胸背板上，后背孔则生在第 6 腹节背板上。

**腹脐 (circulus)**: 位于虫体腹部腹面，常在第 3-4 腹节间，多为圆形、卵圆形、长方形或沙漏形，边缘硬化框明显

**盘腺 (disk pores)**: 盘腺又名孔腺，是一类孔状的圆形腺体结构，依据孔状分隔多少，将其分为单孔、三格腺、五格腺、多格腺、筛状孔等。单孔 (discoidal pore)，指结构简单的孔状腺，内无明显孔口；三格

腺 (trilocular pores) 呈三角形或近三角形，其内具 3 格；五格腺 (quinelocular pores)，中心有 1 圆形格，周围围绕 5 格；多格腺 (multilocular pores)，中心有 1 圆形格，周围围绕多格 (大于 5 格)；筛状孔 (shield disk pores)，指圆形具有颗粒状表面的单孔。

**管腺 (tubular ducts)**: 一类柱形或近柱形的腺体结构。粉蚧中常见的有领状管 (oral collar tubular ducts)，又称领状腺，其开口处围有窄的环区 (领区)；如管状腺在开口处围有宽的环，并呈一圈蘑菇状突起则称葶状管 (oral rim tubular ducts)，又称葶状腺。

**尾瓣 (anal lobe)**: 粉蚧腹部末端在肛环两侧的突出部分，端部常具 1 根长的刚毛，称端毛 (apical seta)。

**尾瓣腹面硬化 (ventral sclerotization of anal lobe)**: 粉蚧科蚧虫尾瓣腹面常有不同形状的硬化片、硬化棒或硬化条 (sclerotized bar)。

**肛环 (anal ring)**: 位于背末，为肛门开口处的硬化环状结构，通常为椭圆形，其上常具有成列环孔和肛环毛 (anal ring seta)。

**阴门 (vulva)**: 位于腹部腹面，一般在第 7~8 腹节的腹板间，其周围常有盘腺分布。

**刺孔群 (cerarius)**: 一般由若干个圆锥状刺和聚集在刺周围的三格腺或五格腺，并常有一些刚毛共同组成。刺孔群为粉蚧科昆虫均具有的泌蜡构造，通常位于虫体背面边缘，但少数粉蚧在背面中部也有分布。

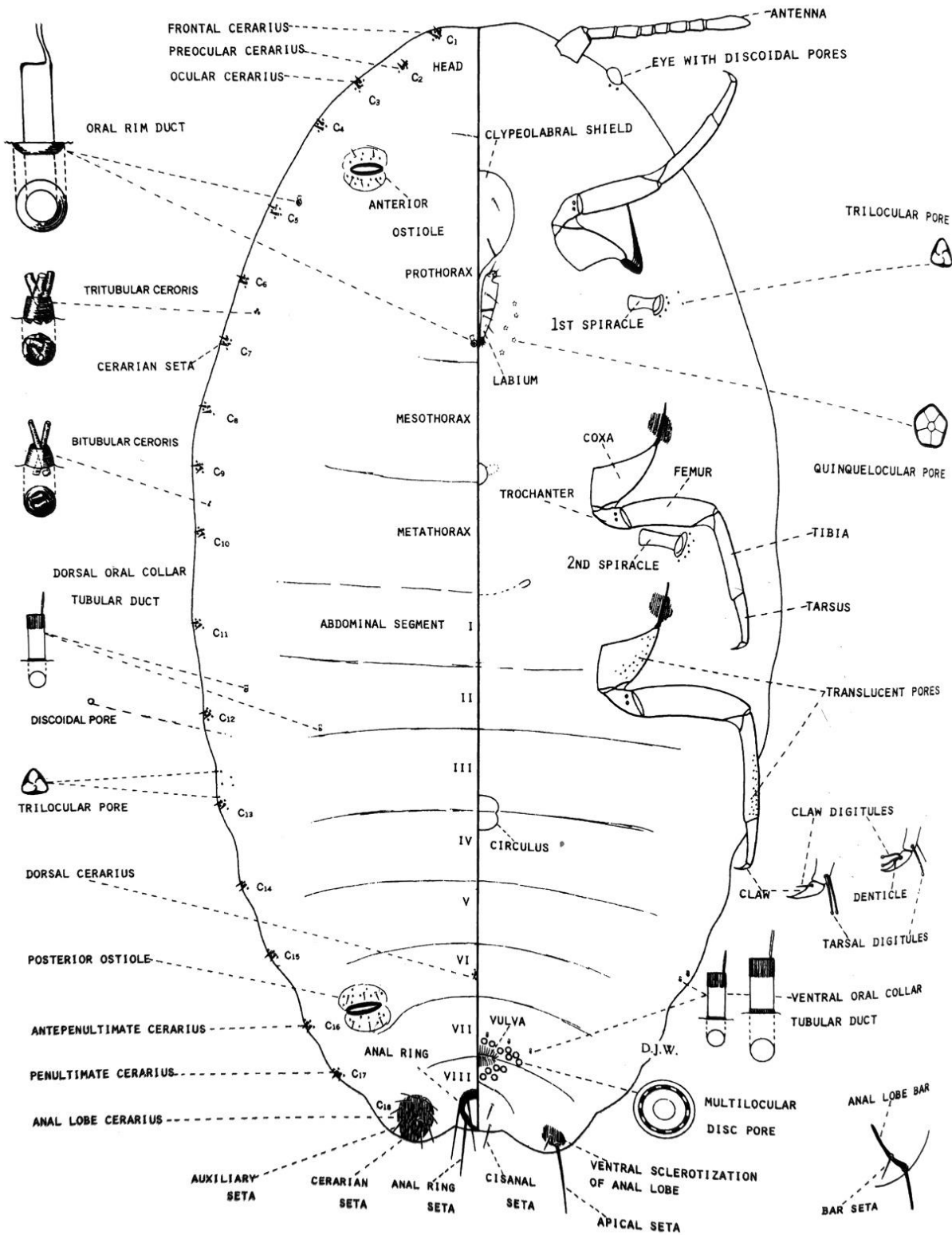


图 1 粉蚧科模式图<sup>[7]</sup>

注：左为背面，右为腹面；C1、C2.....C18 表示刺孔群序号，I、II.....VIII 表示腹节序号。

### 1.3 粉蚧科昆虫分子鉴定

粉蚧科的不同龄期的形态特征和生物学特征高度相似,使得依靠传统分类学方法对粉蚧进行鉴定变得更加艰难。传统粉蚧的鉴定工作往往需要具有经验丰富、具有专业知识的技术人员,在显微镜下依靠角质层的结构特点来进行鉴定,这种鉴定方法一般会花费 2-3 天,而且在遇到近似种时,则会花费更长时间。

近年来,分子生物学的发展极大促进了物种的分类鉴定工作<sup>[8-10]</sup>,由于其不受物种及发育阶段的限制,具有快速、简便的特点,其被应用到各种行业如司法鉴定<sup>[11]</sup>、医学鉴定<sup>[12]</sup>、农业科学<sup>[13]</sup>的物种鉴定中,一些分子鉴定方法甚至可以用于发现新种和隐存种<sup>[14-15]</sup>。因此运用分子生物技术鉴定物种越来越受到生物分类学家的关注,这也为粉蚧分子生物学鉴定提供了的依据。在分子鉴定中,常用的分子标记物有 rDNA(18S, 28S, ITS 区)<sup>[16-18]</sup>、线粒体的细胞色素氧化酶 I (COI) 和细胞色素氧化酶 II (COII)<sup>[19-21]</sup>。为了快速准确鉴定物种,研究物种之间遗传变异规律,当前已经出现了很多分子方法以及基于上述分子标记物开发的鉴定手段,如随机扩增多态性 DNA (RAPD 技术)<sup>[22-23]</sup>、PCR-RFLP<sup>[24-27]</sup>、设计特异性引物与构建多重 PCR 反应体系<sup>[28-29]</sup>、DNA 条形码技术<sup>[30]</sup>等。由于 DNA 条形码是标准的、有足够碱基变异率、使用通用引物即可获得、易扩增且相对较短的 DNA 片段,使得其成为物种鉴定的重要工具,也极大帮助分类学家发现一些隐存种,弥补了形态学分类的不足。此外,使用 DNA 条形码鉴定还可以形成标准化模式,对鉴定人员的经验要求不高,只需按照简单的实验操作步骤就可完成,其独特的优势极大促进了物种遗传资源保藏和分类鉴定工作。

基于 DNA 条形码技术的粉蚧分子鉴定和系统发育的研究国内外已有很多报道。Gullan 等<sup>[31]</sup>运用基于 rDNA 和线粒体基因的 DNA 条码技术并辅助形态学特征描述了美国地区的一个新种: *Ferrisia gilli* Gullan。Sethusa 等<sup>[32]</sup>通过将 COI 基因和 28S 基因串联构建的 DNA 条形码提高了粉蚧鉴定的准确度。Puig 等<sup>[33]</sup>通过 DNA 条形码技术鉴定了在可可树上取食的粉蚧,并比较了 COI 序列、ITS2 和 28S 基因序列的鉴定效率,发现 COI 序列的变异水平更高,能准确区分杰克贝尔氏粉蚧、康氏粉蚧和木槿蔓粉蚧。何衍彪等<sup>[34]</sup>通过基于 DNA 序列的 12 种粉蚧亲缘关系分析,发现 rDNA 28S 序列保守,适合于菠萝灰粉蚧、新菠萝灰粉蚧、康氏粉蚧、扶桑绵粉蚧、湿地松粉蚧、长尾粉蚧等粉蚧种间的分子鉴定,但不适合臀纹粉蚧属内种间的分子鉴定,而 mtDNA COI 序列变异率较高,则可作为其分子鉴定的依据。王戌勃<sup>[35]</sup>对来自中国 49 个地点的 23 属 54 种粉蚧 246 个个体进行分析,发现以 COI 基因作为分子标记,所有粉蚧在 NJ 系统发育树上均形成独立且有高支持率的进化分支,而以 28S 作为分子标记构建的 NJ 系统进化树,除了柑橘臀纹粉蚧、大洋臀纹粉蚧和日本盘粉蚧,其他粉蚧物种均能在 NJ 树上形成高支持率的独立分支。

## 2. 材料与方法

### 2.1 材料来源

供试粉蚧为市场上购买的针垫花中发现的,试虫浸泡于 95%乙醇中, -20°C 保存;其他的粉蚧标本均为郑州海关自 2015 年至今从进口货物或者旅客携带的水果中截获的,浸泡在 95%酒精中, -20°C 冰箱保存备用。

表 1 本研究中所用到的粉蚧

序号	种类	来源地	寄主
1	新菠萝灰粉蚧 ( <i>Dysmicoccus neobrevipes</i> )	越南	山竹
2	菠萝灰粉蚧 ( <i>Dysmicoccus brevipes</i> )	中国香港	菠萝
3	李比利氏灰粉蚧 ( <i>Dysmicoccus lepelleyi</i> )	新加坡	山竹
4	甘蔗簇粉蚧 ( <i>Exallomochlus hispidus</i> )	中国澳门	龙宫果
5	双条拂粉蚧 ( <i>Ferrisia virgata</i> )	阿联酋	火龙果
6	木槿曼粉蚧 ( <i>Maconellicoccus hirsutus</i> )	泰国	释迦
7	扶桑绵粉蚧 ( <i>Phenacoccus solenopsis</i> )	中国	烟草
8	石蒜绵粉蚧 ( <i>Phenacoccus solani</i> )	中国	土豆
9	桔臀纹粉蚧 ( <i>Planococcus citri</i> )	泰国	番荔枝
10	南洋臀纹粉蚧 ( <i>Planococcus lilacinus</i> )	马来西亚	人参果
11	大洋臀纹粉蚧 ( <i>Planococcus minor</i> )	韩国	榴莲
12	长尾粉蚧 ( <i>Pseudococcus longispinus</i> )	中国香港	柿子
13	榕树粉蚧 ( <i>Pseudococcus baliteus</i> )	美国	红毛丹
14	柑橘棘粉蚧 ( <i>Pseudococcus cryptus</i> )	泰国	菠萝
15	康氏粉蚧 ( <i>Pseudococcus comstocki</i> )	中国台湾	葡萄
16	杰克贝尔氏粉蚧 ( <i>Pseudococcus jackbeardsleyi</i> )	泰国	红毛丹
17	<b>混点迪氏粉蚧 (<i>Delottococcus confusus</i>)</b>	<b>中国</b>	<b>针垫花</b>
18	褐软蜡蚧 ( <i>Coccus hesperidum</i> )	中国	月季

## 2.2 仪器、器材与试剂

### 2.2.1 仪器与器材

体视显微镜、正置显微镜、低温冰箱、镊子、小毛笔、培养皿、乙醇、氢氧化钠、冰醋酸、品红、放大镜、石碳酸、二甲苯、昆虫解剖针、温箱、载玻片、盖玻片、离心机、紫外分光光度计、PCR 仪、超低温冰箱、金属浴、电子天平、微量加样器 (0.5 $\mu$ L、2 $\mu$ L、10 $\mu$ L、20 $\mu$ L、100 $\mu$ L、200 $\mu$ L、1000 $\mu$ L)。

### 2.2.2 试剂

10% NaOH 或 10% KOH、甘油、加拿大树胶、蒸馏水、75%乙醇、95%乙醇、无水乙醇、冰醋酸、树脂、丁香油、甘油、酸性品红、二甲苯、苯酚、实验用水、昆虫基因组 DNA 提取试剂盒、DNA 快速纯化/回收试剂盒等。

## 2.3 玻片标本制作

粉蚧体型小, 为保证粉蚧虫体的完整, 一般用毛笔尖轻轻将其从鲜切花上粘下放入含 70%乙醇的离心管中, 以备后续玻片制作。粉蚧玻片标本制作按以下方法制作, 然后在显微镜下观察形态特征。

### 2.3.1 固定

将雌成虫 (活体) 移入 70%乙醇溶液中浸泡 2 h 或以上, 以杀死和固定虫体。

### 2.3.2 脱脂

将已经固定的虫体置于体视显微镜下, 用解剖针刀在虫体头胸背面中央切一小口, 切口大小约占虫体长度的 1/3, 再将虫体放入盛有 10%氢氧化钠或 10%氢氧化钾溶液的离心管中, 置于水浴或金属浴中加热, 温度 50 $^{\circ}$ C ~ 80 $^{\circ}$ C, 当虫体变软, 内容物变白

时,取出离心管轻摇几次,再放回加热,当内容物近透明时,将虫体移入盛有碱液的透明比色皿或其它器皿中,用解剖针等工具小心清理虫体,直至彻底清除内含物、虫体变为清洁透明。

### 2.3.3 脱碱

把已透明虫体移入盛有热蒸馏水的比色皿中清洗数次,直至完全清除虫体的碱液。或将虫体转移至酸性乙醇溶液(冰醋酸 10 mL,蒸馏水 45 mL,95%乙醇 45 mL)中,中和 5 min。

### 2.3.4 染色

将脱碱后的标本转移至酸性品红饱和溶液中染色,染色时间视标本着色情况而定,通常 1~24 h。

### 2.3.5 脱水

将已染色的虫体移入 70%乙醇溶液中清除虫体多余的浮色,再依次经过 95%乙醇溶液、100%乙醇脱水。

### 2.3.6 透明

将染色脱水后的虫体移入二甲苯酚混合液(二甲苯:苯酚为 3:1)透明 5 min~10 min,再移入二甲苯溶液中固色 1 min~3 min。

### 2.3.7 封片

在载玻片上滴加适量的中性树胶,移入虫体,整姿,然后用盖玻片封片。

## 2.4 DNA 提取、扩增与序列比对

### 2.4.1 DNA 提取

为保证形态学鉴定所用粉蚧玻片标本与 PCR 扩增所用模板基因组 DNA 的标本一致,本研究中粉蚧基因组 DNA 提取参照叶琳雄等<sup>[36]</sup>无损形态基因组 DNA 提取方法。提取步骤具体如下:将已经泡在 95%酒精中的粉蚧个体用无菌水清洗 3 次,置于在解剖镜下,用解剖针刀在虫体头胸背面中央切一小口,切口大小约占虫体长度的 1/4 或者更小,再将虫体置于含 20μL 蛋白酶 K 的 1.5ml 离心管中,然后将其放进金属浴中,56°C 消化过夜,第二天用挑环将其挑出,置于凹面皿上用于后续的玻片标本制作,而剩下的消化液用于粉蚧基因组 DNA 提取。采用 QIAGEN DNeasy blood & Tissue kit DNA 提取试剂盒,按照说

明书要求,提取单头粉蚧基因组 DNA,使用 BioDrop DUO 紫外分光光度计测定了粉蚧 DNA 的浓度,测定 DNA 的质量,然后将其保存于 -20°C 冰箱中备用。

### 2.4.2 PCR 扩增、检测与测序

选用粉蚧 mDNA COI 基因通用引物对 PcoF (CCTTCAACTAAT CATAAAAATATYAG ) 和 LepR (AAACTTCTGGATGTCCAAAAA TCA )、rDNA 28S 通用引物对 28S-F (AGAGAGAGTTCAAGAGTAC GTG)和 28S-R (TTGGTCCGTGTTTCAAGACGGG) 进行基因扩增,引物由华大基因公司合成。25μL PCR 反应体系: 12.5μL TakaRa Premix Tap™ Version 2.0 plus dye, 上下游引物各 1μL (10μmol/L), 模板 2μL (10-30ng), 无菌 ddH<sub>2</sub>O 8.5μL。扩增程序为: 94°C 4min; 94°C 40s, 51°C 40s, 72°C 50s, 35 个循环; 72°C 10min。PCR 产物在 1.2% 的琼脂糖凝胶中电泳 (电压为 150V, 电泳时间 25min), 而后将其至于凝胶成像仪上观察结果。将电泳检测合格的 PCR 产物委托华大基因公司纯化与双向测序。获得的序列用 BioEdit version 7.0.5 软件进行双向序列拼接并人工校对,得到粉蚧的 mDNA COI 序列和 rDNA 28S 序列。将获得序列与 GenBank 已发布的序列进行比对,验证分子检测结果与形态鉴定的一致性。

从 GenBank 中下载混点迪氏粉蚧和近似种 *Delottooccus aberiae* rDNA 28S 的同源序列, GenBank 登录号分别为 KP771931.1 和 KP771927.1、JQ651344.1 和 JF714185.1; 下载混点迪氏粉蚧 mDNA COI 同源序列 KP771952.1, 在 GenBank 中进行同源比对,未发现有近似种的 mDNA COI 序列。

### 2.4.3 DNA 序列数据处理

通过 MEGA 6 软件对拼接后序列进行比对分析,以褐软蜡蚧 *Coccus hesperidum* 作为外群,基于 Kimura-2-parameter 模型,以邻位连接法 (Neighbor-joining, NJ), 构建系统发育树,并计算遗传距离,系统进化树各进化分支的相对支持率采用 Bootstrap 法检测,自展系数为 1000。



### 3 结果

#### 3.1 形态学鉴定

##### 3.1.1 制定粉蚧科属级检索表

依据郑州海关往年截获的粉蚧(表1),在显微镜下,观察粉蚧科不同属的雌成虫粉蚧玻片显微特征,认真学习了解粉蚧各属的形态特征,制定粉蚧科雌成虫分属检索表,为鉴别针垫花中的粉蚧打下基础。

- 1 体背有拂状管;触角6-8节;尾瓣宽突;三格腺分布背腹面;多格腺多分布于腹部腹面;刺孔群仅末对具2-3根锥刺.....拂粉蚧属 *Ferrisia*  
体背没有拂状管.....2
- 2 具有蕈腺.....3  
没有蕈腺.....6
- 3 触角具9节,背孔2对,刺孔群1-18对不等,各由2根锥刺和三格腺组成,无附毛;三格腺常分布于腹部腹面,蕈状腺仅分布在虫体背面,领状腺常分布在腹面边缘.....曼粉蚧属 *Maconellicoccus*  
触角具8节.....4
- 4 后足基节有透明孔.....5  
后足基节没有透明孔,后足胫节有透明孔;蕈状腺周缘常不明显,且腹面蕈状腺比背面小;触角8节;有硬化棒;腹部刺孔群的锥刺少于2个且无附毛;无腹脐.....迪氏粉蚧属 *Delottococcus*
- 5 刺孔群9-18对,仅尾瓣刺孔群有附毛;爪下无齿,跗冠毛端部膨大如球形;后足基节和胫节具透明孔;尾瓣具硬化棒;有三格腺和多格腺;领状腺分布在体腹面和背面.....秀粉蚧属 *Paracoccus*  
刺孔群17对;触角8节;眼在其后之头缘,常有伴孔;有腹脐;爪下无齿,后足基节、腿节和胫节常具透明孔;端毛长于环毛;多格腺一般仅在腹部腹面;蕈状腺在体背常成排分布.....粉蚧属 *Pseudococcus*
- 6 爪上有发达的齿;刺孔群1-18对;后足基部无透明孔;背刚毛短,刺状;三格腺着生在刚毛基部;多格腺成排出现在腹面;领状腺背面多大于腹面,或者二者等大.....绵粉蚧属 *Phenacoccus*  
爪下无齿.....7
- 7 肛环毛大于6根;刺孔群2-18对;腹部腹面各节外侧缘具一硬化区;多格腺仅在腹面;后足基节、腿节、胫节具透明孔.....簇粉蚧属 *Paraputo*  
肛环毛6根.....8
- 8 刺孔群18对,每对有成群三格腺;后足基节和胫节常具透明孔;具单孔;管状腺仅分布于腹面,头胸部少.....曲刺粉蚧属 *Exallomochlus*  
末对刺孔群锥刺2个.....9
- 9 无硬化棒;触角6-8节;背孔2对;刺孔群7-17对,末对刺孔群常多刺,但不超过6根;肛环有6根长环毛;足发达,爪下无齿,后足基节常有透明孔.....灰粉蚧属 *Dysmicoccus*  
具硬化棒;触角8节;刺孔群18对,仅末对有附毛;足发达,除后足跗节之外其他节常具透明孔,爪下无齿;多格腺在腹部腹板上呈横带排列;领状腺主要分布在虫体腹面,在虫体边缘最多.....臀纹粉蚧属 *Planococcus*

##### 3.1.2 混点迪氏粉蚧形态学特征

雌成虫灰色(图2),体后缘4对蜡丝,末对最长。在叶背取食。



图2 从针垫花中发现的混点迪氏粉蚧

雌成虫形态特征 (图3):

背面: 刺孔群 18 对, 尾瓣刺孔群硬化; 三格腺在各节成排分布; 单孔分布在三格腺周围; 蕈状腺分布在体表, 额对刺孔群和第  $C_{13}$  对刺孔群旁至少 1 个, 胸部中部缺失, 腹部在腹节成横列分布, 在第 V、VII 腹节分别有 24 个、14 个; 背毛多形, 腹部第 7 节背毛最长, 长达  $28\mu\text{m}$ ; 瓣毛长  $230\mu\text{m}$ , 约为肛环直径的 1.9 倍。

腹面: 触角 8 节, 末节有分节裂痕; 三格腺与单

孔在各节成排分布; 多格腺主要分布在第 V-VIII 节, 第 IV 节稀少, 第 VII 和 VIII 节主要在腹节前缘, 胸部和体缘无; 腹面蕈状腺比背面小, 从前气孔至第二节虫体每侧有 21 个, 位于头部的刺孔群周围有 1 个蕈状腺; 领状腺有两种类型, 大领状腺在体缘成群分布, 小的领状腺分布于胸部和腹部中区, 第  $C_{12}$  和  $C_{13}$  对刺孔群旁无领状腺。后足腿节无透明孔, 后足胫节有透明孔, 后足胫节、后足跗节分别长  $315\mu\text{m}$ 、 $112\mu\text{m}$ , 比例为 2.8。



图3 混点迪氏粉蚧玻片图 (赵朗 摄)

3.1.3 与近似种的区别<sup>[37-38]</sup>

迪氏粉蚧属 *Deltococcus* 属特征: 触角 8 节; 刺孔群 9-18 对, 腹部刺孔群的锥刺大于 2 个且具附毛; 尾瓣腹面具硬化棒; 背面背孔明显; 肛环毛 6 根; 腹部腹面无腹脐; 盘腺通常分布于腹面, 有三格腺,

多格腺常分布于腹部腹面中区, 亚边缘常无; 足发达, 爪下无齿; 后足胫节上有透明孔, 后足基节无透明孔; 有茸状腺, 其常周缘不明显, 腹面比背面茸状腺小。迪氏粉蚧属 9 种粉蚧雌成虫形态特征检索表如下<sup>[38]</sup>:

- |   |                     |
|---|---------------------|
| 1 后足腿节有透明孔.....                           | 2                   |
| 后足腿节无透明孔.....                             | 7                   |
| 2 前气孔侧缘无管腺.....                           | 3                   |
| 前气孔侧缘具 1 个或多个管腺.....                      | 4                   |
| 3 后足腿节透明孔少于 50 个, 第 3 腹节腹面无多孔腺.....       |                     |
| ..... <i>D. phylicus</i>                  |                     |
| 后足腿节透明孔多于 50 个, 第 3 腹节腹面有多孔腺.....         |                     |
| ..... <b><i>D. confusus</i> (in part)</b> |                     |
| 4 第 4 或 5 腹节前侧缘无多孔腺, 胸部腹面多孔腺少于 10 个.....  | 5                   |
| 第 4 或 5 腹节前侧缘有多孔腺, 胸部腹面多孔腺多于 10 个.....    |                     |
| ..... <i>D. millari</i>                   |                     |
| 5 各腹节腹面亚缘区无多孔腺.....                       | 6                   |
| 某些腹节腹面具多孔腺.....                           | <i>D. quaesitus</i> |
| 6 刺孔群通常 15-18 对, 头胸部刺孔群锥刺不加长.....         |                     |
| ..... <i>D. aberiae</i>                   |                     |
| 刺孔群通常少于 15 对, 头胸部刺孔群锥刺明显加长.....           |                     |
| ..... <i>D. proteae</i>                   |                     |

- 7 腹部亚缘区多孔腺少于 20 个.....8  
腹部亚缘区多孔腺多于 20 个.....*D. euphorbiae*
- 8 后足胫节透明孔少于 70 个, 胫节不膨胀.....9  
后足胫节透明孔多于 70 个, 胫节显著膨胀.....  
.....*D. confusus*(in part)
- 9 触角长于 500 $\mu$ m, 后足腿节刺毛 20-26 根, 头胸部刺孔群锥刺较背毛明显粗壮.....*D. trichiliae*  
触角短于 400 $\mu$ m, 后足腿节刺毛 13-20 根, 头胸部刺孔群锥刺较细长, 似背毛.....*D. elisabethae*

### 3.2 分子生物学鉴定

为了进一步验证形态学鉴定结果的准确性, 本研究同时开展 DNA 条形码鉴定。在不影响粉蚧制片的情况下, 无损提取 DNA, 进行 PCR 扩增, 以 mtDNA *COI* 基因和 rDNA 28S 序列, 以 NJ 邻接法构建系统发育树来鉴别混点迪氏粉蚧。

#### 3.2.1 *COI* 基因、28S 序列分析

电泳结果显示, 利用粉蚧 mDNA *COI* 基因、28S

序列通用引物扩增可得到单一特异性条带 (图 4)。PCR 产物经纯化、测序、拼接, *COI* 基因扩增条带大小为 649bp, 28S 扩增片段大小为 340bp。通过 GenBank 数据库进行同源度比对, 与数据库中混点迪氏粉蚧的同源度达 99%以上, 确定该虫为混点迪氏粉蚧。

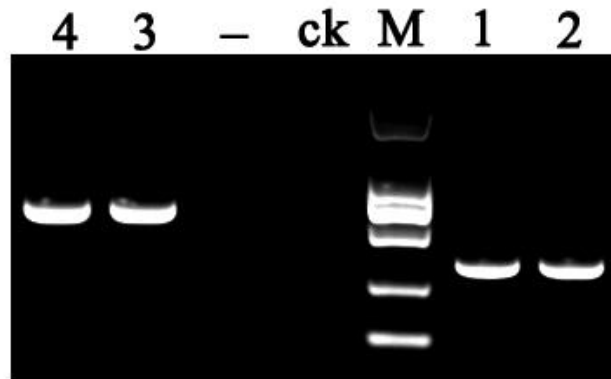


图 4 PCR 扩增电泳图。M, DL 2000 marker; CK, 空白对照; —, 阴性对照; 1 和 2, 采用引物 28S-F/28S-R 引物扩增; 3 和 4, 采用引物 PcoF/LepR 扩增。

#### 3.2.2 基于 *COI* 基因、28S 的粉蚧系统进化分析

将试虫粉蚧 mDNA *COI* 序列、rDNA 28S 序列结合 GenBank 中的同源序列, 以褐软蜡蚧 *Coccus hesperidum* 作为外群, 与表 1 种粉蚧科其他种群进行聚类, 采用 NJ 邻接法构建系统进化树 (图 5 和图 6)。结果发现, 基于 *COI* 基因、28S 的粉蚧系统进化树相似, 均能将针垫花中发现的混点迪氏粉蚧区分

出来, 且能与 GenBank 中同源序列聚为一支, 验证了形态学结果的准确性。

表 2 结果显示, 采自针垫花中的粉蚧标本与来自南非的大花帝王花 (*Protea magnifica*, KP771931.1) 和银白木百合 (*Leucadendron argenteum*, KP771927.1) 遗传距离最近, 均为 0.009; 其次是同属的 *Delottococcus aberiae*, 遗传距离也均为 0.023。表 3 结果显示, 针垫花中的粉蚧标本与来自南非的银白木百合 (*Leucadendron argenteum*, KP771952.1) 遗传距离最近, 为 0.003。

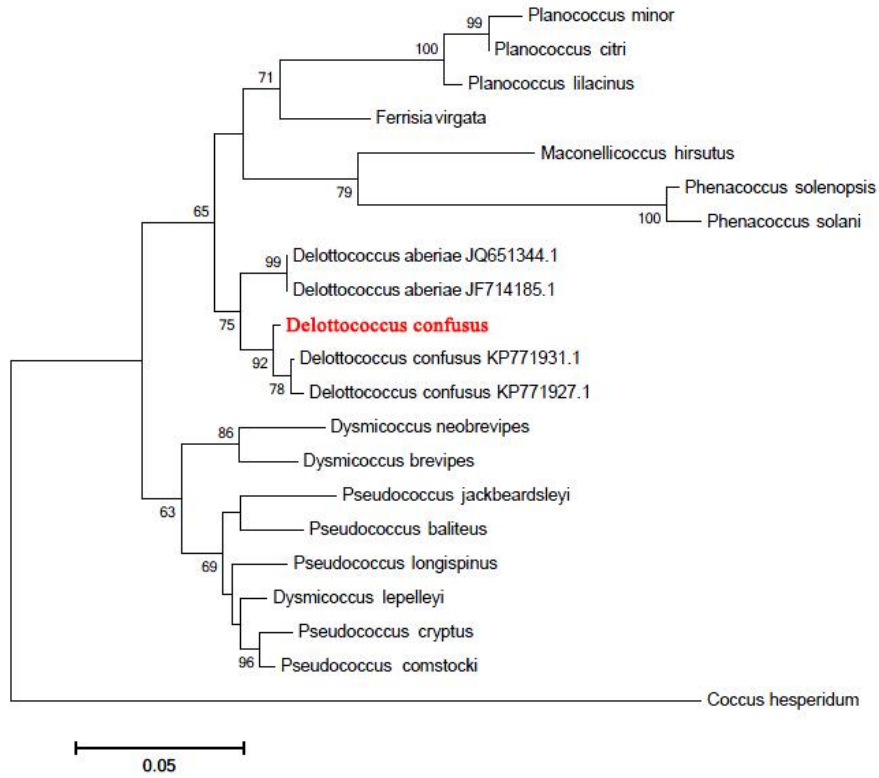


图 5 基于 rDNA 28S 序列 18 种的分子 NJ 系统进化树

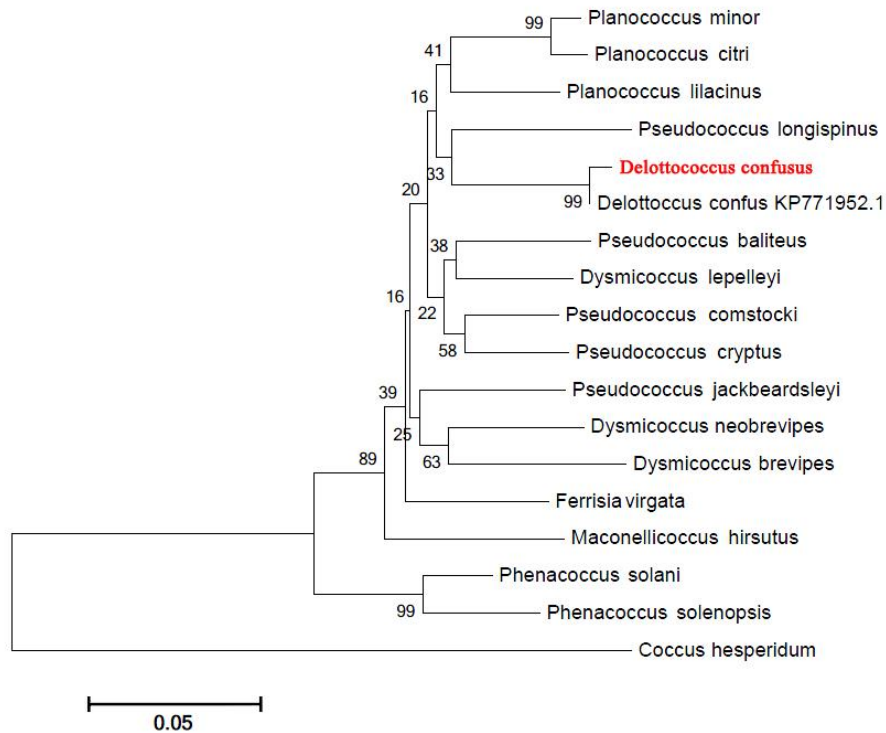


图 6 基于 mtDNA COI 序列 17 种的分子 NJ 系统进化树

表 2 18 种粉蚧 28S 基因序列的遗传距离

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1 <i>Ps.ongispinus</i>		0.015	0.012	0.011	0.015	0.028	0.025	0.026	0.035	0.036	0.030	0.021	0.018	0.011	0.018	0.020	0.021	0.020	0.020	0.020	0.041
2 <i>Ps.jackbeardsleyi</i>	0.052		0.016	0.015	0.014	0.031	0.028	0.030	0.033	0.035	0.028	0.023	0.021	0.015	0.018	0.022	0.022	0.021	0.021	0.020	0.043
3 <i>Ps.cryptus</i>	0.033	0.052		0.008	0.014	0.030	0.027	0.029	0.037	0.039	0.031	0.024	0.019	0.010	0.017	0.021	0.022	0.020	0.020	0.021	0.041
4 <i>Ps.comstocki</i>	0.028	0.047	0.014		0.014	0.029	0.027	0.028	0.037	0.038	0.030	0.023	0.018	0.009	0.016	0.021	0.021	0.021	0.021	0.020	0.041
5 <i>Ps.baliteus</i>	0.047	0.047	0.047	0.042		0.029	0.027	0.028	0.038	0.039	0.032	0.022	0.021	0.011	0.017	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.041
6 <i>Pl.minor</i>	0.146	0.176	0.169	0.163	0.157		0.011	0.007	0.032	0.033	0.033	0.021	0.031	0.029	0.031	0.024	0.024	0.025	0.025	0.024	0.049
7 <i>Pl.ilacinus</i>	0.124	0.152	0.146	0.140	0.146	0.028		0.009	0.030	0.031	0.031	0.021	0.029	0.027	0.029	0.022	0.022	0.022	0.022	0.022	0.046
8 <i>Pl.citri</i>	0.135	0.164	0.157	0.152	0.146	0.009	0.018		0.031	0.032	0.032	0.020	0.030	0.027	0.029	0.022	0.023	0.024	0.024	0.022	0.047
9 <i>Ph.solenopsis</i>	0.200	0.194	0.226	0.220	0.227	0.187	0.164	0.175		0.008	0.028	0.031	0.036	0.037	0.036	0.031	0.031	0.028	0.028	0.030	0.047
10 <i>Ph.solani</i>	0.207	0.213	0.233	0.226	0.234	0.193	0.170	0.181	0.014		0.030	0.032	0.038	0.038	0.037	0.032	0.032	0.029	0.029	0.031	0.048
11 <i>Ma.hirsutus</i>	0.154	0.154	0.172	0.166	0.173	0.188	0.165	0.176	0.148	0.154		0.027	0.029	0.031	0.029	0.026	0.025	0.024	0.024	0.024	0.050
12 <i>Fe.virgata</i>	0.093	0.103	0.114	0.109	0.098	0.092	0.087	0.082	0.170	0.176	0.136		0.027	0.022	0.024	0.020	0.019	0.020	0.020	0.018	0.046
13 <i>Dy.neobrevipes</i>	0.072	0.093	0.077	0.072	0.092	0.169	0.152	0.163	0.218	0.225	0.153	0.130		0.018	0.014	0.020	0.021	0.020	0.020	0.020	0.042
14 <i>Dy.lepellei</i>	0.028	0.052	0.023	0.019	0.028	0.157	0.146	0.146	0.226	0.233	0.172	0.103	0.067		0.015	0.021	0.021	0.021	0.021	0.021	0.040
15 <i>Dy.brevipes</i>	0.072	0.072	0.067	0.057	0.072	0.169	0.157	0.157	0.211	0.218	0.158	0.113	0.042	0.057		0.021	0.021	0.020	0.020	0.020	0.044
16 <i>De.confusus</i> KP771931.1	0.077	0.093	0.093	0.088	0.088	0.108	0.092	0.097	0.170	0.176	0.120	0.077	0.083	0.088	0.093		0.004	0.012	0.012	0.006	0.045
17 <i>De.confusus</i> KP771927.1	0.082	0.093	0.098	0.093	0.093	0.113	0.097	0.102	0.170	0.176	0.120	0.077	0.088	0.093	0.093	0.005		0.012	0.012	0.006	0.045
18 <i>De.aberiae</i> JQ651344.1	0.083	0.088	0.088	0.093	0.093	0.119	0.097	0.108	0.147	0.152	0.109	0.082	0.083	0.093	0.082	0.033	0.033		0.000	0.010	0.043
19 <i>De.aberiae</i> JF714185.1	0.083	0.088	0.088	0.093	0.093	0.119	0.097	0.108	0.147	0.152	0.109	0.082	0.083	0.093	0.082	0.033	0.033	0.000		0.010	0.043
20 <i>De.confusus</i>	0.077	0.083	0.093	0.088	0.088	0.108	0.092	0.097	0.158	0.164	0.109	0.067	0.083	0.088	0.082	0.009	0.009	0.023	0.023		0.045
21 <i>Co.hesperidum</i>	0.286	0.313	0.293	0.286	0.285	0.347	0.326	0.333	0.358	0.358	0.353	0.320	0.292	0.272	0.306	0.306	0.313	0.299	0.299	0.306	

表 3 17 种粉蚧 *COI* 基因序列的遗传距离

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1 <i>Fe.virgata</i>		0.012	0.013	0.013	0.013	0.014	0.013	0.012	0.012	0.014	0.012	0.012	0.011	0.013	0.013	0.011	0.011	0.026
2 <i>Pl.minor</i>	0.091		0.013	0.014	0.015	0.015	0.014	0.012	0.011	0.016	0.013	0.013	0.012	0.012	0.006	0.012	0.012	0.028
3 <i>Ps.baliteus</i>	0.103	0.102		0.012	0.013	0.014	0.013	0.010	0.012	0.015	0.012	0.013	0.011	0.011	0.013	0.012	0.013	0.028
4 <i>Dy.neobrevipes</i>	0.102	0.105	0.085		0.014	0.014	0.012	0.012	0.013	0.015	0.014	0.014	0.013	0.012	0.014	0.013	0.014	0.027
5 <i>Ma.hirsutus</i>	0.109	0.120	0.102	0.112		0.014	0.015	0.014	0.013	0.016	0.014	0.015	0.013	0.013	0.015	0.013	0.015	0.026
6 <i>Ph.solani</i>	0.122	0.135	0.124	0.124	0.133		0.014	0.015	0.014	0.009	0.016	0.016	0.015	0.015	0.015	0.013	0.015	0.026
7 <i>Dy.brevipes</i>	0.103	0.118	0.105	0.091	0.127	0.126		0.013	0.013	0.016	0.015	0.015	0.014	0.014	0.014	0.012	0.015	0.028
8 <i>Dy.lepelleyi</i>	0.098	0.085	0.073	0.087	0.107	0.129	0.103		0.011	0.016	0.012	0.013	0.011	0.010	0.012	0.012	0.012	0.027
9 <i>Pl.lilacinus</i>	0.084	0.070	0.093	0.094	0.096	0.116	0.105	0.085		0.015	0.013	0.012	0.011	0.011	0.011	0.012	0.011	0.027
10 <i>Ph.solenopsis</i>	0.131	0.146	0.141	0.131	0.150	0.054	0.148	0.144	0.137		0.016	0.016	0.016	0.015	0.017	0.016	0.016	0.025
11 <i>Ps.longispinus</i>	0.102	0.096	0.100	0.122	0.120	0.141	0.129	0.098	0.105	0.156		0.013	0.012	0.013	0.013	0.013	0.013	0.029
12 <i>De.confusus</i>	0.091	0.085	0.105	0.118	0.120	0.139	0.122	0.102	0.087	0.156	0.098		0.011	0.013	0.013	0.013	0.003	0.028
13 <i>Ps.comstocki</i>	0.080	0.087	0.082	0.093	0.096	0.137	0.113	0.071	0.077	0.144	0.096	0.078		0.010	0.012	0.012	0.011	0.026
14 <i>Ps.cryptus</i>	0.094	0.091	0.077	0.089	0.103	0.137	0.120	0.070	0.068	0.143	0.094	0.096	0.058		0.012	0.012	0.013	0.027
15 <i>Pl.citri</i>	0.093	0.019	0.105	0.109	0.124	0.141	0.124	0.089	0.071	0.148	0.096	0.085	0.084	0.087		0.012	0.012	0.027
16 <i>Ps.jackbeardsleyi</i>	0.087	0.091	0.100	0.096	0.114	0.111	0.096	0.093	0.087	0.139	0.112	0.109	0.089	0.093	0.093		0.013	0.026
17 <i>De.confus_KP771952.1</i>	0.087	0.078	0.098	0.111	0.112	0.131	0.114	0.094	0.080	0.148	0.093	0.006	0.077	0.093	0.082	0.102		0.027
18 <i>Co.hesperidum</i>	0.319	0.346	0.348	0.343	0.331	0.326	0.353	0.348	0.333	0.328	0.374	0.366	0.343	0.363	0.348	0.331	0.356	

### 3.3 名称与分类地位

中文名：混点迪氏粉蚧

学名：*Delottococcus confusus* (De Lotto, 1977)

异名：*Allococcus confusus* De Lotto 1977  
*Delottococcus confusus* Cox & Ben-Dov 1986

分类地位：隶属于半翅目 (Hemiptera)、蚧总科 (Coccoidea)、粉蚧科 (Pseudococcidae)、迪氏粉蚧属 (*Delottococcus*)。

### 3.4 地理分布与寄主植物

混点迪氏粉蚧起源于非洲南部，目前已传入美国夏威夷、加利福尼亚州。混点迪氏粉蚧寄主植物非常广泛，已报道的寄主植物达 14 科 15 个属。

夹竹桃科 Apocynaceae: 假虎刺属 (*Carissa*)、大花假虎刺 (*Carissa macrocarpa*);

菊科 Asteraceae : *Osteospermum moniliferum* subsp. *moniliferum*。绒球花科

Bruniaceae: *Berzelia lanuginosa*;

豆科 Fabaceae: 相思树属 (*Acacia*);

鸢尾科 Iridaceae: *Bobartia orientalis*;

唇形科 Lamiaceae : 马刺花属 (*Plectranthus*);

楝科 Meliaceae : 帚木属 (*Trichilia*)、*Trichilia emetica*;

玉盘桂科 Monimiaceae: 单心桂 *Xymalos monospora*;

桃金娘科 Myrtaceae: 番石榴 *Psidium guajava*;

山龙眼科 Proteaceae: 帝王花属 (*Protea*)、帝王花 *Protea cynaroides*、南非帝王花 *Protea caffra*、木百合属 (*Leucadendron*)、银叶树 *Leucadendron arcuatum*、针垫花 *Leucospermum nutans*;

茜草科 Rubiaceae: 猪肚木属 (*Canthium*);

芸香科 Rutaceae: 柑橘属 (*Citrus*);

山榄科 Sapotaceae: 香榄属 (*Mimusops*)、牛奶果 *Mimusops caffra*;

茄科 Solanaceae: 枸杞属 (*Lycium*)、*Lycium tetrandrum*;

### 3.5 生物学特性

混点迪氏粉蚧单头雌虫产卵量高，生殖方式为营孤雌生殖，种群世代重叠。该虫危害时，以滞留的雌成虫和若虫刺吸食植物的嫩枝、叶片、花芽和叶柄，造成受害植物树势衰弱，生长缓慢或停止，甚至干枯死亡。此外，该虫取食时还大量分泌蜜露，进而诱发煤污病，影响寄主植物的光合作用，导致被害寄主生长不良，提前落叶、落果，降低产量。

### 4 讨论

混点迪氏粉蚧是新发现的入侵生物，由于其传播的隐秘性和危害性，本研究首次对其进行形态学描述和 DNA 条形码鉴定。山龙眼科植物是近年来鲜切花市场的新宠，尤以帝王花最受人们欢迎。在我国与非洲贸易往来逐年增加的大背景下，此次从国内流通市场上发现外来入侵粉蚧，提醒我们应该加强对来自非洲国家的苗木切花进行检疫，防止有害生物传入我国。

迪氏粉蚧属 (*Delottococcus* spp.) 于 1986 年被 Cox & Ben-Dov 所建立，以此来表彰南非昆虫分类学家 De Lotto Givovanni 先生在蚧虫分类所做的贡献<sup>[37]</sup>。该属的创立起源于巴西柏树上 *Allococcus inamabilis* (Hambleton) 的研究发现。1956 年，Ezzat & McConnell 将臀纹粉蚧属 *Planococcus* 中有蕈状腺的粉蚧归类，创建 *Allococcus* 属，并将 *A. inamabilis* 作为该属的模式标本。但在后期的研究中发现 *A. inamabilis* 其实是就是 *P. vovae*，但由于 *A. inamabilis* 是 *Allococcus* 属的模式物种，导致 *Allococcus* 属的存在存疑。此外，由于类似蕈状腺的管腺结构在 *Pseudococcus* 中被发现，1977 年，De Lotto 错误的将 *Pseudococcus* 属中的 *trichiliae* 种作为 *Allococcus* 属的模式种，其中也将跟该种相同起源的非洲类群粉蚧也一块放入该属种。1986 年，Cox & Ben-Dov 重新对 *Allococcus* 属中的粉蚧进



行梳理,将该属中起源于非洲的粉蚧归类,创建 *Delottococcus* 属,以此来区分当时仍被保留的 *Allococcus* 属。

目前该属已报道有 9 种粉蚧<sup>[38]</sup>,均为山龙眼科植物和一些经济作物诸如柑橘的主要害虫<sup>[39]</sup>。根据国家统计局数据,2019 年我国柑橘种植面积已达到 3926 万亩,产量已达 4585 万吨,已经成为我国第一大水果<sup>[40]</sup>。由于粉蚧体型小,繁殖量大,常滞留危害,使得 *Delottococcus* 物种的侵入将会严重威胁我国柑橘产业发展,进而影响我国柑橘出口,对产业扶贫和柑橘品牌建设产生重大影响。由于该属粉蚧是南非山龙眼科植物首要害虫,再加上寄主范围广,具入侵性等,目前,混点迪氏粉蚧已被日本、韩国定为进境检疫性有害生物,被欧盟植物保护组织认定为限定性有害生物。

粉蚧作为微小昆虫,极易随进口水果、鲜切花和邮寄的多肉等植物产品入境,威胁我国的农林生态安全。据海关部门统计,近年来口岸截获的粉蚧占口岸截获有害生物的 10%左右。粉蚧不同发育阶段和不同类群之间形态特征的高度相似,是粉蚧分类鉴定的重要难点。DNA 条形码由于其通用性和标准性,则很好的弥补了形态分类学的短板,已经广泛应用到物种分类鉴定中<sup>[41]</sup>。本研究结果表明,分子鉴定结果与形态学结果一致,表明 DNA 条形码可以作为粉蚧分类鉴定的依据。同时基于 *COI* 基因和 *28S* 序列的系统进化树揭示了迪氏粉蚧属 (*Delottococcus*) 与臀纹粉蚧属 (*Planococcus*) 同属于一个进化分支,这也解释了早期人们将二者混肴的原因。尽管基于 *COI* 基因和 *28S* 序列构建的进化树均能区分粉蚧科各属,但是由于 *28S* 序列保守型好和 *COI* 序列中 A+T 占比高,碱基变异率低,导致其不适合用于种级的遗传分化方面研究,这表明,在以后的粉蚧分类鉴定中,不能仅靠单个 DNA 条形码用于粉蚧的分类鉴定,要结合两个以上 DNA 条形码进行研究。此外,本研究还发现,

基于 *COI* 基因和 *28S* 基因构建的系统进化树均将李比利氏灰粉蚧 (*Dysmicoccus lepelleyi*) 与粉蚧属 (*Pseudococcus*) 粉蚧归为一个进化分支,这与形态学分类结果不一致,这或许需要我们进一步对该粉蚧进行研究,确定其分类地位。

## 5 展望

(1) 尽管 DNA 条形码已经广泛应用到粉蚧的分类鉴定中,成为形态学鉴定强有力的辅助工具,但是粉蚧科昆虫种类众多,有许多隐存种和近似种,不能依靠单个基因片段构建系统进化树,还需要尝试进行多个基因片段的比较,更好的利用 DNA 条形码进行粉蚧分类鉴定。

(2) 本论文通过形态学和 DNA 条形码对发现的粉蚧进行了鉴定,但是这两种方法均需要有专业的培训方能开展,无法实现所看即所知。在人工智能和大数据快速发展的背景下,下一步可尝试使用基于图片识别技术的智能显微镜来鉴别粉蚧玻片标本,通过深度学习算法,精准识别放大 10-40 倍条件下的粉蚧玻片上的组织结构,然后综合分析获得鉴定结果。

## 6 参考文献

- [1] Mazzeo G, Franco J C, Russo A. A new *Paracoccus* species from Palaearctic region (Hemiptera, Sternorrhyncha, Coccoidea, Pseudococcidae)[J]. *Zootaxa*, 2009, 2274(1): 62-68.
- [2] 中国科学院中国动物志编辑委员会主编;王子清编著. 中国动物志 昆虫纲 第 22 卷 同翅目 蚧总科. 北京: 科学出版社, 2001.02.
- [3] 唐慧骥,党志浩,郭长宁,王晓晶,苗小星,郭保生,徐超.应用重组酶介导核酸扩增技术快速鉴定新菠萝灰粉蚧[J]. 植物检疫,2019,33(02):37-42.
- [4] 汤昉德著,1992.中国粉蚧科[M].北京: 中国农业科技出版社.
- [5] 李慧萍,2021.口岸截获蚧虫彩色图鉴.北京: 中国农业出版社.
- [6] Cook L G, Gullan P J, Trueman H E. A

- preliminary phylogeny of the scale insects (Hemiptera: Sternorrhyncha: Coccoidea) based on nuclear small-subunit ribosomal DNA[J]. *Molecular phylogenetics and evolution*, 2002, 25(1): 43-52.
- [7] Williams D J. Mealybugs of southern Asia[M]. 2004, Natural History Museum/Southdene Sdn Bhd.
- [8] Hebert P D N, Penton E H, Burns J M, et al. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(41): 14812-14817.
- [9] Hajibabaei M, Janzen D H, Burns J M, et al. DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(4): 968-971.
- [10] Van der Bank H F, Greenfield R, Daru B H, et al. DNA barcoding reveals micro-evolutionary changes and river system-level phylogeographic resolution of African silver catfish, *Schilbe intermedius* (Actinopterygii: Siluriformes: Schilbeidae) from seven populations across different African river systems[J]. 2012.
- [11] Zehner R, Amendt J, Schütt S, et al. Genetic identification of forensically important flesh flies (Diptera: Sarcophagidae)[J]. *International journal of legal medicine*, 2004, 118(4): 245-247.
- [12] Koekemoer L L, Kamau L, Hunt R H, et al. A cocktail polymerase chain reaction assay to identify members of the *Anopheles funestus* (Diptera: Culicidae) group[J]. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 2002, 66(6): 804-811.
- [13] Harper G L, Sheppard S K, Harwood J D, et al. Evaluation of temperature gradient gel electrophoresis for the analysis of prey DNA within the guts of invertebrate predators[J]. *Bulletin of entomological research*, 2006, 96(3): 295-304.
- [14] Brown J W, Miller S E, Horak M. Studies on New Guinea moths. 2. Description of a new species of *Xenothictis meyrick* (Lepidoptera: Tortricidae: Archipini)[J]. *Proceedings-entomological Society of Washington*, 2003, 105(4): 1043-1050.
- [15] Pauls S U, Blahník R J, Zhou X, et al. DNA barcode data confirm new species and reveal cryptic diversity in Chilean Smicridea (Smicridea)(Trichoptera: Hydropsychidae)[J]. *Journal of the North American Benthological Society*, 2010, 29(3): 1058-1074.
- [16] Erlandson M, Braun L, Baldwin D, et al. Molecular markers for *Peristenus* spp.(Hymenoptera: Braconidae) parasitoids associated with *Lygus* spp.(Hemiptera: Miridae)[J]. *The Canadian Entomologist*, 2003, 135(01): 71-83.
- [17] Ashfaq M, Erlandson M, Braun L. Hyperparasitism by *Mesochorus* spp.(Hymenoptera: Ichneumonidae) in *Peristenus* sp.(Hymenoptera: Braconidae) and development of PCR primers for hyperparasitoid detection[J]. *Biological Control*, 2005, 32(3): 371-377.
- [18] Garipey T D, Kuhlmann U, Gillott C, et al. Parasitoids, predators and PCR: the use of diagnostic molecular markers in biological control of Arthropods[J]. *Journal of Applied Entomology*, 2007, 131(4): 225-240.
- [19] Simon C, Frati F, Beckenbach A, et al. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers[J]. *Annals of the entomological Society of America*, 1994, 87(6): 651-701.
- [20] Rokas A, Nylander J A A, Ronquist F, et al. A maximum-likelihood analysis of eight phylogenetic markers in gallwasps (Hymenoptera: Cynipidae): implications for insect phylogenetic studies[J]. *Molecular phylogenetics and evolution*, 2002, 22(2): 206-219.
- [21] Li H M, Deng R Q, Wang J W, et al. A preliminary phylogeny of the Pentatomomorpha (Hemiptera: Heteroptera) based on nuclear 18S rDNA and mitochondrial DNA sequences[J]. *Molecular phylogenetics and evolution*, 2005, 37(2): 313-326.
- [22] Demontis M A, Ortu S, Cocco A, et al. Diagnostic markers for *Planococcus ficus* (Signoret) and *Planococcus citri* (Risso) by random amplification of polymorphic DNA-polymerase chain reaction and species-specific mitochondrial DNA primers[J]. *Journal of Applied Entomology*, 2007, 131(1): 59-64.
- [23] Serçe Ç U, Kaydan M B, Kilincer A N, et al. Investigation of mealybug (Hemiptera: Coccoidea: Pseudococcidae) species from Turkey by RAPD[J]. *Phytoparasitica*, 2007, 35(3): 232-238.
- [24] Tilmon K J, Danforth B N, Day W H, et al. Determining parasitoid species composition in a host population: a molecular approach[J]. *Annals of the Entomological Society of*

- America, 2000, 93(3): 640-647.
- [25] Latrofa M S, Annoscia G, Dantas-Torres F, et al. Towards a rapid molecular identification of the common phlebotomine sand flies in the Mediterranean region[J]. *Veterinary parasitology*, 2012, 184(2): 267-270.
- [26] Bounamous A, Lehrter V, Hadj-Henni L, et al. Limits of a rapid identification of common Mediterranean sandflies using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism[J]. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 2014, 109(4): 466-472.
- [27] Lanes-Acevedo I P, Arcones C, Gálvez R, et al. DNA sequence analysis suggests that cytb-nd1 PCR-RFLP may not be applicable to sandfly species identification throughout the Mediterranean region[J]. *Parasitology research*, 2016: 1-9.
- [28] Bermingham N, Luettich K. Polymerase chain reaction and its applications[J]. *Current Diagnostic Pathology*, 2003, 9(3): 159-164.
- [29] Garipey T D, Kuhlmann U, Haye T, et al. A single-step multiplex PCR assay for the detection of European *Peristenus* spp., parasitoids of *Lygus* spp[J]. *Biocontrol Science and Technology*, 2005, 15(5): 481-495.
- [30] Linares M C, Soto-Calderón I D, Lees D C, et al. High mitochondrial diversity in geographically widespread butterflies of Madagascar: a test of the DNA barcoding approach[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2009, 50(3): 485-495.
- [31] Gullan P J, Downie D A, Steffan S A. A new pest species of the mealybug genus *Ferrisia* Fullaway (Hemiptera: Pseudococcidae) from the United States[J]. *Annals of the Entomological Society of America*, 2003, 96(6): 723-737.
- [32] Sethusa M T, Millar I M, Yessoufou K, et al. DNA barcode efficacy for the identification of economically important scale insects (Hemiptera: Coccoidea) in South Africa[J]. *African Entomology*, 2014, 22(2): 257-266.
- [33] Puig A S, Wurzel S, Suarez S, et al. Molecular identification of mealybug species (Hemiptera: Pseudococcidae) affecting *Theobroma cacao* for improved pest management[C]//Proceedings of the 1st International Electronic Conference on Entomology. Basel, Switzerland: MDPI, 2021.
- [34] 何衍彪,万宣伍,詹儒林,孙光明,刘映红,许再福,赵艳龙.基于DNA序列的12种粉蚧亲缘关系分析[J]. *热带作物学报*, 2011, 32(12): 2324-2330.
- [35] 王戎勃. 粉蚧科昆虫分子鉴定及与长索跳小蜂的协同系统发育研究[D]. 北京林业大学, 2017.
- [36] 叶琳雄,符清流,胡荣,李加慧.粉蚧科无损形态基因组 DNA 提取技术[J]. *热带生物学报*, 2016, 7(04): 497-499.
- [37] Cox J M, Ben-Dov Y. Planococcine mealybugs of economic importance from the Mediterranean Basin and their distinction from a new African genus (Hemiptera: Pseudococcidae)[J]. *Bulletin of Entomological Research*, 1986, 76(3): 481-489.
- [38] Miller D R, Giliomee J H. Systematic revision of the mealybug genus *Delottococcus* Cox & Ben-Dov (Hemiptera: Pseudococcidae)[J]. *African Entomology*, 2011, 19(3): 614-640.
- [39] Millar I M. Mealybug genera (Hemiptera: Pseudococcidae) of South Africa: identification and review[J]. *African Entomology*, 2002, 10(2): 185-233.
- [40] 李向阳. 品牌视角下的柑橘价值链研究[D]. 中国农业科学院, 2021.
- [41] Ismail I, Elashtokhy M M A, Hegab M A M. The Monitoring and Molecular Identification of the Mealybug, *Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hemiptera: Pseudococcidae) on Okra Plants at Sharkia Governorate[J]. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. C, Physiology and Molecular Biology*, 2020, 12(2): 241-248.

## 7 选题灵感来源

2021年4月,我参加了郑州海关组织的国门生物安全宣传周活动,参观了海关国门生物安全实验室,第一次了解到进口水果、鲜切花、苗木等植物能携带有害昆虫传入我国,危害我国的农林业生态安全。这次的课外实践活动给我留下了深刻的印象,我开始系统学习昆虫学相关知识。同时我非常关注家里购买的水果和鲜切花,尤其是进口水果和鲜切花,每次买回来我都会检查水果和鲜切花是否有昆虫危害。父亲节时,我从鲜花店购买了一束针垫花送给父亲,父亲收到之后很高兴。在插花时,意外的在花瓣上发现有一个白色的昆虫,我就很想知道该昆虫是哪一种,于是我同郑州海关生物安全实验室的老师联系,得知

该昆虫属于粉蚧科,但具体到种,需要进一步的解剖制片才能确定。于是,在父亲的帮助下,我有幸进入郑州海关生物安全实验室实习,在指导老师的帮助下,开始了我的首次科学试验活动。

#### 8 每位作者在本课题研究中的贡献

本研究由赵朗独立完成。前期查阅资料、与指导老师对接、玻片标本制作、DNA 提取、序列比对和 NJ 系统进化树构建与分析均由作者独立完成。论文初稿由作者完成,然后经指导老师修改后成稿。由于本研究仅发现一头粉蚧,作者为保证形态学描述准确,混点迪氏粉蚧形态学特征描述和属内粉蚧检索表主要翻译自 Mill D.R. 和 Giliomee J.H.<sup>[38]</sup>对迪氏粉蚧属(*Delottococcus*)的形态学描述,然后结合本研究发现的粉蚧特征综合撰写所得。答谢部分有作者独立完成。

#### 9 答谢

感谢丘成桐竞赛给了我在高中阶段一个深入探索生命科学的机会。感谢郑州海关技术中心党志浩老师、唐慧骥老师、苗小星老师给予的悉心指导和鼓励,同时也感谢父亲在联系指导单位和老师付出的关爱以及精神鼓励和资金支持。感谢一下自己,在繁忙的高中学习生活之余,能一头钻进自己定的研究方向,且不懈努力,经过近一年的时间,最终完成本项研究。最后感谢亲爱的爸爸和妈妈,是他们给予我理解、支持,给我关心和呵护,放弃双休和节假日,陪伴我完成这项研究工作。

3/16/2023