

# 基于线粒体 *COI* 基因部分序列的缅甸安小叶蝉地理种群遗传多样性研究

董梦书<sup>1</sup>, 杨琳<sup>1,2,3\*</sup>, 陈祥盛<sup>1,2,3</sup>, 张余杰<sup>1</sup>

(1. 贵州大学昆虫研究所, 贵阳 550025; 2. 贵州山地农业病虫害重点实验室, 贵阳 550025; 3. 贵州昆虫资源开发利用特色重点实验室, 贵阳 550025)

**摘要:** 缅甸安小叶蝉 *Anaka burmensis* 是一种取食竹子的害虫, 为了探讨该物种不同地理种群的遗传多样性, 本研究首次基于线粒体 *COI* 基因部分序列对我国 26 个地理种群共 241 个样本进行了研究, 选取长度为 615 bp 的基因序列, 并运用 DNASP、MEGA 等分析得出, 该片段中有 546 个保守位点、69 个变异位点和 33 个单倍型。种群的单倍型多样性指数为 0.845, 核苷酸多样性指数为 0.008 77, 基因流为 0.598 5, 种群间的固定系数为 0.729 15, 表明种群间遗传多样性水平高、遗传分化大、基因交流水平较低。中性检验 Tajima's *D* 为 -1.658 98,  $0.10 > P > 0.05$ , Fu's *F<sub>s</sub>* 值为 -5.787,  $P > 0.10$ 。分子变异结果显示, 该物种的遗传变异主要来自种群间, 变异百分率为 72.92%, 而种群内的遗传变异低, 仅为 27.08%。研究结果得出该物种的遗传结构, 可为今后从事叶蝉类昆虫的分子生物学研究及该虫的防治提供理论基础资料。

**关键词:** 缅甸安小叶蝉; mtDNA *COI* 基因; 地理种群; 遗传多样性

中图分类号: Q38

文献标志码: A

文章编号: 1000-7083 (2017) 03-0000-00

## Analysis of Genetic Diversity among Different Geographic Populations of *Anaka burmensis* (Hemiptera: Cicadellidae) Based on Part of mtDNA *COI* Gene Sequences

DONG Mengshu<sup>1</sup>, YANG Lin<sup>1,2,3\*</sup>, CHEN Xiangsheng<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Yujie<sup>1</sup>

(1. Institute of Entomology, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. Guizhou Key Laboratory for Plant Pest Management of Mountainous Region, Guiyang 550025, China; 3. Special Key Laboratory of Insect Resource Development and Utilization, Guiyang 550025, China)

**Abstract:** *Anaka burmensis* is an important pest which feed on bamboo. To investigate the genetic variation of *A. burmensis* among different geographic populations in China, the 615 bp segments of the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I (*COI*) gene of *A. burmensis* individuals from 26 geographic populations were analyzed by using DNASP, MEGA etc. The results showed that there were 546 conserved sites, 69 mutation sites, 33 haplotypes in the fragments; a high level of genetic diversity (haplotype diversity index: 0.845; nucleotide diversity index: 0.008 77) in the total population was detected. Additionally, high genetic differentiation (fixation index: 0.729 15) was found among different geographic populations but with low gene flow level (0.598 5). The differences of the Neutral test (Tajima's *D* = -1.658 98,  $0.10 > P > 0.05$ , Fu's *F<sub>s</sub>* = -5.787,  $P > 0.10$ ) were not significant. The result of molecular variance analysis showed that the genetic differentiation among populations was 72.92% and higher than that of within populations (27.08%). Therefore, here we concluded the genetic structure of *A. burmensis* can provide a theoretical basis for future research of molecular biology and the control of this insect.

**Keywords:** *Anaka burmensis*; mtDNA *COI* gene; geographic population; genetic diversity

缅甸安小叶蝉 *Anaka burmensis* 隶属于半翅目 Hemiptera 叶蝉科 Cicadellidae 小叶蝉亚科 Typhlocybae, 为植食性昆虫, 主要分布于缅甸、越南(Dworakowska, 1993)、中国的贵州、云南、湖南、广西、四川、重庆等地。该虫体长 3~4 mm, 体褐色, 中域冠有 2 个褐色黑圆斑, 前翅前缘与后缘附近各具 1 淡黄色半透明斑(图 1)。该虫以刺吸竹类植物叶片为生, 严重影响了竹子的生长发育, 是一类重要害虫(杨琳等, 1999; 陈祥盛等, 2012)。

收稿日期: 2017-01-21 接受日期:

基金项目: 国家自然科学基金项目(31260178; 31660209)

作者简介: 董梦书(1991—), 女, 硕士研究生, 主要从事农林昆虫多样性研究, E-mail: dongmsh\_chl@163.com

\*通信作者 Corresponding author, E-mail: yanglin6626@163.com

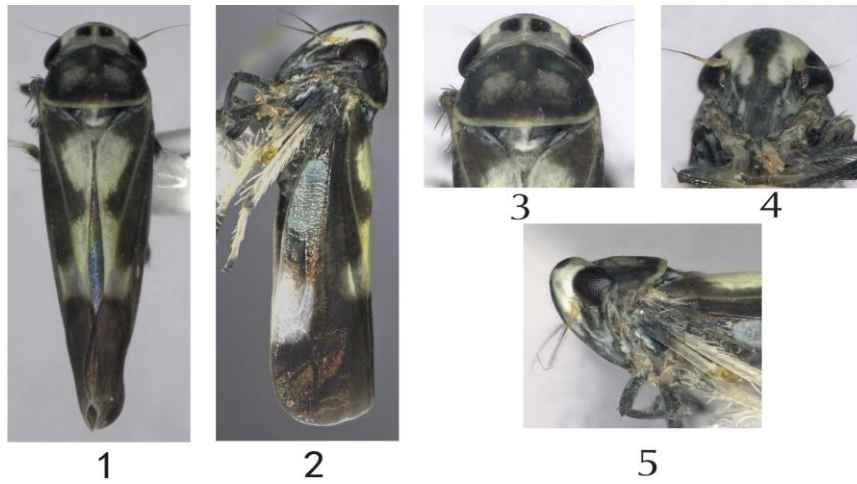


图1 缅甸安小叶蝉 *Anaka burmensis* Dworakowska

Fig. 1 The phenotype of *Anaka burmensis* Dworakowska

1. 雄成虫背面观male habitus, dorsal view; 2. 雄成虫侧面观male habitus, lateral view; 3. 头胸部背面观head and thorax, dorsal view; 4. 颜面face; 5. 头胸部侧面观head and thorax, lateral view。

随着分子生物学技术的迅速发展和广泛的应用, 分子标记已成为昆虫分子系统学中的一个新热点(李正西, 沈佐锐, 2002)。在半翅目中, 此研究主要集中在蝽类(卜云等, 2006)、蚜虫(张合彩, 乔格侠, 2008)等。叶蝉类昆虫的研究主要有小贯小绿叶蝉 *Empoasca onukii* (Fu *et al.*, 2014)的地理种群及分子系统学研究。mtDNA是细胞质中一种遗传物质, 呈闭合双链环状结构, 具有简单的分子结构、母系遗传、技术方法简单快捷、比核基因进化速率快、多拷贝及高度保守等特点, 在昆虫系统发育进化(Ren *et al.*, 2013)、遗传变异、亲缘关系和物种鉴定(Lee *et al.*, 2014)等研究领域中的应用广泛。在半翅目昆虫中, mtDNA *COI*基因长度相对其他基因位置比较保守, 用于分子系统学、鉴别物种及遗传变异等研究(肖永刚, 陈祥盛, 2014)。当前有关缅甸安小叶蝉的研究仅局限于形态学和生态学方面, 而在分子生物学上未见地理种群遗传多样性的相关报道。为了解中国缅甸安小叶蝉群体的遗传结构, 本研究通过mtDNA *COI*基因序列作为分子标记对我国缅甸安小叶蝉26个地理种群的遗传多样性进行研究, 分析其不同地理种群的遗传结构及分化, 探讨该物种内在的遗传因素, 研究结果有利于深入了解该物种在中国的分布和变化, 可为叶蝉类昆虫分子生物学研究及缅甸安小叶蝉的防治奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试虫源: 2014年10月—2016年8月在国内7个省(市)26个地区通过扫网方法采集样本(表1), 将采集的缅甸安小叶蝉成虫置于1.5 mL的离心管中, 分装并记录采集地及时间。用无水乙醇浸泡后, 置于-70 °C超低温冰箱中保存、长期待用。

表1 缅甸安小叶蝉不同地理种群样品信息

Table 1 The data of difference geographic population of *Anaka burmensis*

种群代码 Code	采集地点 Locality	采集时间 Collecting date	海拔 Elevation/m	东经 East Longitude	北纬 North latitude	样本数量 Number
HX	贵州花溪区	2015年9月	1108	106°40'	26°26'	10
WD	贵州乌当区	2015年7月	1008	106°50'	26°38'	10
XW	贵州修文县	2015年1月	1268	106°34'	26°50'	10
ZZ	贵州遵义市	2015年1月	864	106°52'	27°38'	10
DZ	贵州道真县	2015年1月	902	107°34'	29°05'	10
PD	贵州普定县	2015年4月	1260	105°44'	26°18'	10
RJ	贵州榕江县	2016年6月	278	108°30'	25°55'	13
CJ	贵州从江县	2016年7月	253	108°51'	25°43'	14
FQ	贵州福泉县	2014年11月	958	107°24'	26°35'	10
LD	贵州罗甸县	2015年9月	678	106°32'	25°17'	2
DX	广东韶关市	2013年5月	93	113°44'	25°02'	1
HN	广东广州市	2015年1月	27	113°21'	23°11'	10

YS	广西天峨县	2015年7月	668	110°05'	24°08'	2
XA	广西兴安县	2015年7月	208	110°29'	25°52'	10
BN	云南景洪市	2015年9月	863	101°15'	21°56'	11
LC	云南绿春县	2015年9月	1 546	102°23'	23°0'	14
ML	云南勐腊县	2015年5月	545	101°16'	21°56'	9
BS	云南保山市	2016年5月	1 166	98°50'	25°17'	10
WS	云南文山市	2016年6月	1 425	104°04'	23°0'	6
LS	四川乐山市	2016年7月	473	103°28'	29°35'	10
YA	四川雅安市	2016年7月	894	103°02'	29°57'	10
YB	四川宜宾市	2016年7月	477	104°37'	28°47'	10
MY	四川绵阳市	2016年7月	482	104°36'	31°27'	10
BB	重庆北碚区	2016年7月	732	106°24'	29°51'	12
FL	重庆涪陵区	2016年7月	516	107°23'	29°41'	10
ZG	湖北秭归县	2016年8月	201	110°56'	30°45'	7

试剂与仪器：昆虫DNA提取试剂盒购于Omega BioTek公司(D0926-01)；由上海生物工程股份有限公司合成引物。Olympus SZ2-ILST型光学体视显微镜(德国Leica公司)；T100™ Thermal Cycler型PCR扩增仪(美国BIO-RAD公司)；170-8170型UVP凝胶成像系统、Power PacTMHV Power Supply型电泳仪(美国BIO-RAD公司)；HVE-50型自动高压灭菌器；Mini-10K微型高速离心机(珠海黑马医学仪器有限公司)等。

## 1.2 方法

**1.2.1 DNA的提取** 取出冷冻保存于冰箱的标本，在解剖镜下去除腹部与双翅置于甘油中保存，其余的头、胸、足等部分置于灭菌的1.5 mL离心管中并使用研磨棒磨至粉末状，然后通过E.Z.N.A.TM Insect DNA kit试剂盒提取总DNA，洗脱出来的DNA用灭菌的PCR管分装，-20℃冰箱保存备用。

**1.2.2 PCR扩增及测序** 提取的总DNA作为模板进行该序列的PCR扩增，反应程序参照Folmer等(1994)，根据引物设计的退火温度( $T_m$ )，设置梯度在10℃以内的温度，进行普通PCR扩增，琼脂糖凝胶电泳检测得到适合该虫的 $T_m$ 为50℃。扩增引物为COI-F：5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'，COI-R：5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3'；PCR扩增反应总体系为30 μL，上下游引物各1 μL，Taq PCR Master Mix 15 μL，DNA模板3 μL，ddH<sub>2</sub>O补至30 μL。

PCR扩增程序为：94℃预变性3 min，94℃变性30 s，50℃退火30 s，72℃延伸1 min，33~35个循环；最后72℃补偿延伸10 min，4℃保存。PCR产物采用1%琼脂糖凝胶电泳检测，凝胶成像分析系统中观察并拍照，记录结果。

**1.2.3 纯化PCR产物并测序** 由Omega BioTek公司的DNA凝胶回收试剂盒(D0926-01)，对需要纯化的样品PCR产物进行回收，回收产物存于PCR管中，由生工生物工程(上海)股份有限公司测序，用以上引物作PCR扩增，进行双向测序。

**1.2.4 数据的整理、分析** 测序得到了241个mtDNA COI基因序列，将测序结果在NCBI内进行BLAST比对，确认测序结果，为缅甸安小叶蝉的mtDNA COI基因序列；运用DNA Star 5.0拼接和校对所得的序列，结果选用615 bp序列片段，对其进行变异分析。

通过MEGA 6.06(Tamura, 2013)分析群体间的碱基组成、变异位点及各核苷酸含量所占的百分比，分析各群体间的遗传距离、核苷酸相似度、各单倍型间的遗传距离。

用DnaSP 5.10分析群体的核苷酸多样性( $P_i$ )、核酸平均差异度( $K$ )、单倍型多样性( $H_d$ )、中性检验(Tajima's  $D$ 和Fu's  $F_s$ )、基因流( $N_{st}$ )、遗传分化系数( $G_{st}$ )、核苷酸平均差异数( $K_{xy}$ )和核苷酸差异度( $D_{xy}$ )。种群间的遗传分化程度用固定系数(fixation index,  $F_{st}$ )衡量(Rousset, 1997)，若 $F_{st} < 0.25$ ，则群体间的基因交流多，总群体间的遗传分化不明显；若 $F_{st} > 0.25$ ，则表明种群的基因交流少，有明显的遗传分化在群体中存在(王静等, 2014)。运用Arlequin 3.5.1.2中Genetic structure进行分子变异AMOVA分析；在Network 5.0中用邻接法构建单倍型网络图。

## 2 结果与分析

### 2.1 碱基组成及序列分析

获得的615 bp的线粒体序列中有546个保守位点、69个变异位点、51个简约信息位点、18个单一变异位点，没有碱基的插入与缺失；碱基T、A、G、C的含量分别是45.6%、26.8%、14.8%、12.8%，其中A+T含量为72.4%，G+C含量为27.6%。

## 2.2 缅甸安小叶蝉单倍型分析

241 个缅甸安小叶蝉样本中共检测出 33 个单倍型, 分别命名为 H1~H33, GenBank 登录号为: KY320208~KY320240, 不同地理种群具有不同的单倍型。每个地理种群有 1~4 个单倍型, 平均有 2 个单倍型, 其中 XW、BN、WS、BS 均检测到 4 个单倍型; HX、WD、ZZ、CJ 均检测到 3 个单倍型。

33 个单倍型中有 6 个共享单倍型 (H1、H2、H4、H7、H19 和 H23), 其中 8 个种群的 76 个样本中, H7 广泛分布; 其次, H2 分布在 8 个种群的 47 个样本中; H4 分布在 5 个种群的 23 个样本中; 在 HX、WD、XW 地理种群中, 有 H1 分布, 其中有 4 个样本; H19 分布在 BN、ML 2 个种群的 15 个样本中; ML、WS 的 14 个样本中有 H23 分布。另外有特殊单倍型 2 个, 分别是 H4 和 H7, 在种群 PD、DX、YA、YB、LS、MY、BB 和 FL 个别样本中出现。

## 2.3 核苷酸多样性与中性检验分析

总群体的  $H_d$  为 0.845,  $K$  为 5.392,  $P_i$  为 0.008 77。不同地理种群  $P_i$  为 0~0.025 04 间,  $H_d$  为 0~0.867, 其中 PD、DX、YS、YA、YB、MY、BB、FL 种群各项参数最低, 均为 0, 而 WS 种群的  $H_d=0.867$ ,  $P_i=0.025 04$  和  $K=15.4$  值最高。中性检验结果显示, 总种群的 Tajima's  $D=1.658 98$ , Fu's  $F_s=-5.787(0.05<P<0.10)$ 。不同地理种群间缅甸安小叶蝉的  $K_{xy}$  的变化范围为 0~20.1667,  $D_{xy}$  的变化范围为 0~0.037 5。

用 MEGA 6.06 采用邻接法在 Kimura 2-parameter 模型的基础上, 对 26 个不同地理种群的遗传距离进行分析, 总平均遗传距离为 0.016 6, 33 个单倍型间的遗传距离为 0.001 6~0.049 0。

## 2.4 不同地理种群的遗传分化

不同地理种群的 mtDNA *CO I* 基因序列的遗传距离为 0~0.039 4。与核苷酸多样数比较结果不显著 ( $P>0.10$ ), 说明遗传分化较低, 推测缅甸安小叶蝉的遗传分化可能受地理位置、海拔和气候的影响。

种群间  $F_{st}$  为 0~1, 平均值为 0.598 0, 说明分化程度显著; 而  $G_{st}$  为 0~1, 平均值为 0.413;  $N_{st}$  为 0~1, 平均值为 0.598 5, 各种群之间基因流比较均一, 种群间基因交流的水平少, 说明各地理种群可能存在遗传漂变, 从而发生分化。

分子变异 AMOVA 的结果显示,  $F_{st}$  为 0.729 15(表 2), 26 个地理种群间的遗传变异, 百分率为 72.92%, 而种群内仅为 27.08%, 表明缅甸安小叶蝉 26 个地理种群的遗传变异主要在种群间, 而种群内较低。说明部分种群间已经产生了明显的遗传分化。

表 2 缅甸安小叶蝉 26 个地理种群 CO I 的分子变异方差分析(AMOVA)

Table 2 Analysis of molecular variance (AMOVA) among 26 population of <i>Anaka burmensis</i>					
变异来源	自由度	平方和	方差组分	变异百分率	固定系数
Source of variation	df	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation/%	Fixation index ( $F_{st}$ )
种群间	25	486.209	2.017 97 <sup>a</sup>	72.92	
种群内	216	161.911	0.749 59 <sup>b</sup>	27.08	0.729 15
总变异	241	648.12	2.76 756		

注: a, b 表示在同一水平上, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

Note: a and b indicate there is a significant difference between populations or within population ( $P<0.05$ ).

## 2.5 单倍型网络图、系统发育

用 Network 5.0 构建单倍型网络图(图 2), 网络图的进化方向比较集中, 可以看成是从中间较多单倍型的种类向周围扩散。在所有群体中具有较高频率的几种单倍型位于网络进化图的右方, 其余低频率的单倍型则通过短支与这几种高频率的单倍型相连, 呈现从频率高向低处扩散的现象。H2、H4、H7 所占的样本量多, 频率较高, 同时其他的单倍型也存在独立的分支, 与分子变异方差分析结果吻合, 说明种群间的遗传分化来自于种群间, 该物种可能存在种群变异。

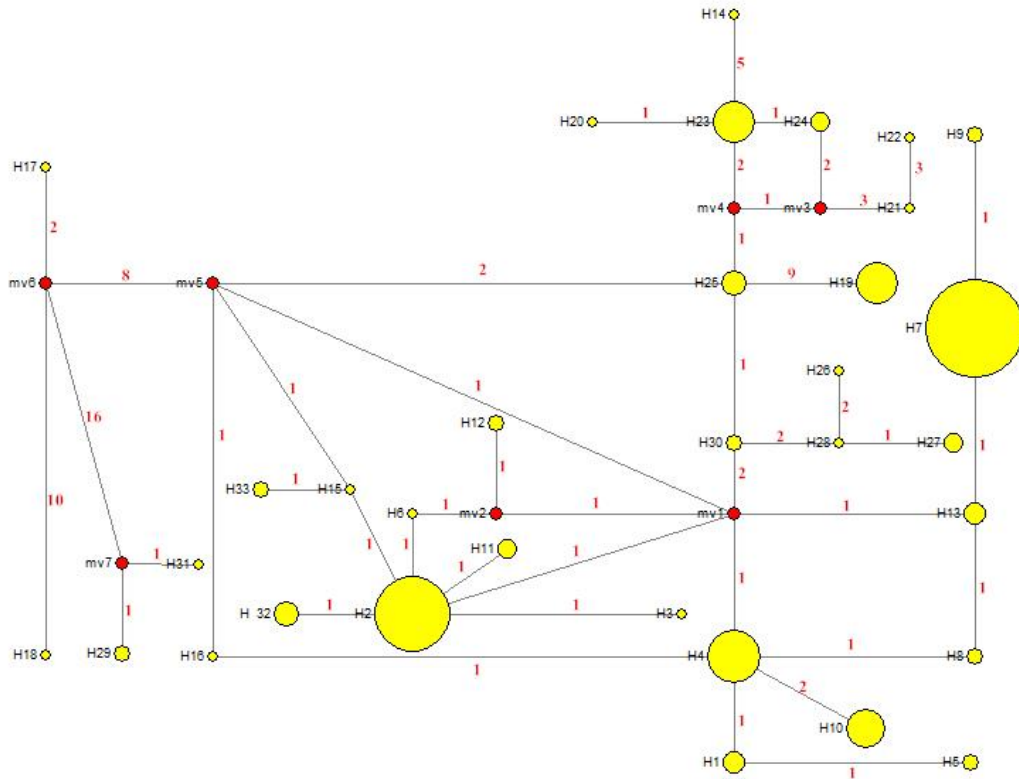


图2 缅甸安小叶蝉 *COI* 基因单倍型网络中介图

Fig. 2 Median-joining network of haplotypes of *Anaka burmensis* based on *COI* gene

黄色圆面积代表单倍型出现频率，红色数字代表变异位点，红色圆点代表中值矢量；圆面积的大小表示样本量的多少，其中最小为1个样本量(如 H3、H6、H14 等)，最大为76个样本量(如 H7)。

Yellow circle area represents haplotype frequencies, red number represents variable sites, and red dot represents median vectors; The size of the circle area indicates the number of samples (1–76).

### 3 讨论

本研究以我国26个地理种群的缅甸安小叶蝉冷冻标本为材料，探索了该虫的241个个体的mtDNA *COI* 基因序列，并进行了测定、分析，构建网络图，其中，72.4%的A+T含量显示A+T偏向性，与半翅目昆虫线粒体基因序列碱基组成结果一致，如绿环缘蝽 *Stictopleurus subviridis* A+T含量达到75.7%(花吉蒙等，2009)，五节根蚜亚科的平均A+T含量为79.6%(张合彩，乔格侠，2008)，17种菱蜡蝉的均为67.2%(肖永刚，陈祥盛，2014)，假眼小绿叶蝉的A+T含量为70.2%(付建玉等，2014)；也与其他昆虫的一致，如直翅目黄胫小车蝗 *Oedaleus infernalis* 的为67.91%(孙嵬等，2013)。

用不同地理种群缅甸安小叶蝉作为实验材料，亲缘关系近，且变异中转换值大于颠换值，符合亲缘关系相近的分类阶元中核苷酸的转换大于颠换，在远缘分类阶元中恰恰相反(Simon *et al.*, 1994)。本研究共得到33个单倍型，其中H7个体数量为76，占总数的31.5%，说明其可能为该物种种群的原始单倍型，具有这种单倍型的物种适应环境的能力强，在生存中为优势种。所有单倍型中共享单倍型有6个，特殊单倍型2个。XW、BN、WS、BS 4个种群的单倍型种类最多，均为4个，其次为HX、WD、ZZ、CJ，均为3个，PD、DX、YA、YB、LS、MY、BB和FL均为1个。单倍型的种类也映射出群体来源的复杂性，说明XW、BN、WS、BS、HX、WD、ZZ、CJ的遗传多样性高，有丰富的遗传资源，而PD、DX、YA、YB、LS、MY、BB和FL的遗传多样性较低。群体单倍型多样性高，说明遗传资源丰富，遗传多样性高。本研究的单倍型多样性为0.845，说明缅甸安小叶蝉不同地理种群的遗传多样性程度较高，存在遗传分化。特别是在BN和WS地理种群中，单倍型多样性最高， $K_{xy}$ 和 $D_{xy}$ 的值比其他种群大，推测不同的地理种群所处的自然环境不同，在寄主植物和自然环境的选择下，发生了相对较大的遗传结构变异。

中性检验结果Tajima's  $D$ 和Fu's  $F_s$ 可反映种群数量的历史变化。两项中性检验的结果参数为负值， $P > 0.01$ ，说明我国缅甸安小叶蝉在近段历史时期有种群扩张，产生了稀有的等位基因(检测到低频率的单倍型)，Fu的 $F_s$ 为负值，表明近段时期该虫可能经历了种群爆发与扩张事件(Tajima, 1989)，近期内有着向某一方向迁飞的趋势。所有地理种群无显著差异，说明各地理种群进化符合中性模型(王兴亚，许国庆，2014)。

在单倍型的发生频率和组成的基础上，分子变异AMOVA分析不同地理种群的分化程度和差异，来判断种群

间遗传分化。分子变异结果表明, 缅甸安小叶蝉的遗传变异主要来自种群间, 种群内分化少, 说明存在种群扩张, 其  $F_{st}$  值为 0.729 15, 说明种群间的遗传分化显著。在这过程中就有着种群间的基因交流, 基因流影响种群间的分化, 减少种群间的遗传差异, 研究表明, 基因流  $N_m$  值为 0.598 5, 小于 1, 说明种群内部基因交流水平低, 各种群间可能发生遗传漂变, 而迁飞发生基因交流较少, 可能存在自然选择、地理环境的影响, 发生了遗传变异(Boivin *et al.*, 2004)。

由单倍型网络可看出, H7、H22 分别是 8 个不同地理种群的共享单倍型, 不同的单倍型存在于不同种群中, 单倍型中介网络图分布的地理种群间对应关系不明显, 说明部分地理种群的缅甸安小叶蝉可能存在不同程度的扩张。从分布格局上看, 比较混乱, 即存在地理种群间的遗传分化, 种群内部分化小, 但从分析的结果来看, 造成分化的原因有地理隔离, 也可能是地理位置、海拔和气候自然选择的结果。

我国缅甸安小叶蝉栖息地无明显丢失现象, 可能是自然环境或地理隔离阻碍了其基因交流。不同地理种群间遗传变异和分化有差异, 部分地理种群间存在迁飞或者扩散现象, 都是自然选择的结果; 各地理种群内的基因交流较小, 遗传分化较小, 内部遗传变异较低。本研究在一定程度上为缅甸安小叶蝉的系统进化研究, 进一步揭示该虫的起源、分化格局、发生规律及扩散方向, 也为将来不同地理种群叶蝉类害虫的防治提供了分子水平的基础资料。由于时间以及该物种生活史的影响, 本研究的不足之处在于仅在我国竹子主产区采集样本, 且仅通过 mtDNA COI 部分序列来研究分析了缅甸安小叶蝉系统进化, 因此, 未来应完善样品采集地以及扩大不同地理种群的样本量, 用序列的全长或更多的基因序列进行分子标记, 得到更精确的数据。

**致谢:** 感谢杨琳老师和陈祥盛教授在实验过程中给予的指导和帮助, 感谢贵州大学昆虫研究所的所有老师在平时答疑中给予的指导, 感谢贵州大学昆虫研究所张余杰、罗强、姚亚林等在标本采集及数据分析上的帮助。

#### 参考文献:

- 卜云, 栾云霞, 郑哲民. 2006. 基于线粒体 COII 基因的中国蝽科分子系统学研究(半翅目, 异翅亚目)[J]. 动物分类学报, 31(2): 239-246.
- 陈祥盛, 杨琳, 李子忠. 2012. 中国竹子叶蝉[M]. 北京: 中国林业出版社: 136-175.
- 付建玉, 李乐, 袁志军, 等. 2014. 基于 mtDNA CO I 的假眼小绿叶蝉系统发育研究[J]. 茶叶科学, 34(6): 601-608.
- 花吉蒙, 董鹏志, 李明, 等. 2009. 绿环缘蝽(昆虫纲, 半翅目, 缘蝽科)线粒体基因组分析[J]. 动物分类学报, 34(1): 1-9.
- 李正西, 沈佐锐. 2002. 赤眼蜂分子鉴定技术研究[J]. 昆虫学报, 45(5): 559-566.
- 孙嵬, 张柱亭, 董辉, 等. 2013. 基于线粒体 COI 基因序列的黄胫小车蝗不同地理种群的遗传分化及基因流分析[J]. 昆虫学报, 56(8): 907-916.
- 王静, 于毅, 陶云荔, 等. 2014. 山东省二点委夜蛾不同地理种群遗传结构[J]. 应用生态学报, 25(2): 562-568.
- 王兴亚, 许国庆. 2014. 中国甜菜夜蛾地理种群的遗传分化与基因流[J]. 昆虫学报, 57(9): 1061-1074.
- 肖永刚, 陈祥盛. 2014. 基于线粒体 COI 基因的 17 种菱蜡蝉亚科昆虫 DNA 条形码研究(半翅目: 蜡蝉总科: 菱蜡蝉科)[J]. 山地农业生物学报, 33(2): 44-50.
- 杨琳, 陈会明, 陈祥盛, 等. 1999. 贵州害竹叶蝉种类记述[J]. 贵州农业科学, 27(1): 17-19.
- 张合彩, 乔格侠. 2008. 五节根蚜亚科(半翅目: 蚜总科: 瘿绵蚜科)基于线粒体基因 COII 的分子系统学研究[J]. 四川动物, 27(5): 754-757.
- Boivin T, Bouvier JC, Beslay D, *et al.* 2004. Variability in diapause propensity within populations of a temperate insect species: interactions between insecticide resistance genes and photoperiodism[J]. Biological Journal of the Linnean Society, 83(3): 341-351.
- Dworakowska I. 1993. Some Dikraneurini (Auchenorrhyncha: Cicadellidae: Typhlocybinae) from south-east Asia[J]. Oriental Insects, 27(1): 151-173.
- Folmer O, Black M, Hoeh W, *et al.* 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates[J]. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 3(5): 294.
- Fu JY, Han BY, Xiao Q. 2014. Mitochondrial COI and 16sRNA evidence for a single species hypothesis of *E. vitis*, *J. formosana* and *E. onukii* in East Asia[J]. PLoS ONE, 9(12): e115259.
- Lee W, Lee Y, Kim H, *et al.* 2014. Developing a new molecular marker for aphid species identification: evaluation of eleven candidate genes with species-level sampling[J]. Journal of Asia-Pacific Entomology, 17(3): 617-627.
- Ren Z, Zhong Y, Kurosu U, *et al.* 2013. Historical biogeography of Eastern Asian-Eastern North American disjunct *Melaphidina aphids* (Hemiptera: Aphididae: Eriosomatinae) on Rhus hosts (Anacardiaceae)[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 69(3): 1146-1158.
- Rousset F. 1997. Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance[J]. Genetics, 145(4): 1219-1228.
- Simon C, Frati F, Beckenbach A, *et al.* 1994. 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, 87(6): 651-701.

Tajima F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism[J]. *Genetics*, 123(3): 585-595.

Tamura K, Stecher G, Peterson D, *et al.* 2013. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 30(12): 2725-2729.