

基于核基因 *EF-1 α* 序列的盾蚧亚科 7 个属的系统发育

魏久锋,冯纪年,王 鹏,黄素凡

(西北农林科技大学 植物保护资源与病虫害防治教育部重点实验室,陕西 杨凌 712100)

【摘 要】 【目的】对盾蚧亚科昆虫的基因序列进行研究,探讨 *EF-1 α* 基因在该亚科昆虫中的分子进化机制,为我国盾蚧亚科昆虫的分类与鉴定提供理论依据。【方法】以 *EF-1 α* 为目的基因,对分布于中国的盾蚧亚科雪盾蚧属、白轮蚧属、并盾蚧属、盾蚧属、矢尖蚧属、拟轮蚧属和围盾蚧属 7 个属 13 种蚧虫以及 2 个外群的 *EF-1 α* 基因进行特异性扩增和测序。使用 ClustalX 1.83 和 MEGA 4.0 系统发育分析软件,对所得 DNA 序列的碱基组成、碱基替换、遗传距离等进行分析;通过碱基替换饱和性分析进行了信号检验;在 MEGA 4.0 软件中采用最大简约法、邻接法和最小进化法对盾蚧亚科 7 属的系统发育关系进行分析。【结果】(1)盾蚧亚科 7 属的 *EF-1 α* 序列中,T、C、A、G 的平均含量分别为 23.5%,25.6%,25.5%和 25.4%,A+T 的含量为 49%,G+C 的含量为 51%。(2)转换频率是颠换频率的 1.3 倍,转换主要发生在 A 与 G 之间,颠换主要发生在 A 与 T 之间。(3)碱基替换饱和性分析显示,*EF-1 α* 数据集有较强的系统发育信号。系统发育树的结果显示,白轮蚧属、并盾蚧属和雪盾蚧属属同一支,盾蚧属和矢尖蚧属属同一支,围盾蚧属和拟轮蚧属属同一支。【结论】*EF-1 α* 基因是盾蚧亚科属级分类单元分子系统发育的有效基因标记之一。

【关键词】 盾蚧亚科;核基因; *EF-1 α* 基因;分子系统学

【中图分类号】 S433.3

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2009)11-0149-07

Study on the phylogeny of seven genera of Diaspidinae based on *EF-1 α* sequences

WEI Jiu-feng, FENG Ji-nian, WANG Peng, HUANG Su-fan

(Key Laboratory of Plant Protection Resources and Pest Management, Ministry of Education,
Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi, 712100, China)

Abstract: 【Objective】The research discussed the molecular evolution based on *EF-1 α* sequences in Diaspidinae by studying the sequence of Diaspidinae, which will be very useful for taxonomy and identification of Diaspidinae species occurring in China. 【Method】In this study, the phylogenetic relationships of the seven genera of Diaspidinae have been analyzed by using nuclear *EF-1 α* sequences from 7 genera that are *Chionaspis*, *Aulacaspis*, *Pinnaspis*, *Diaspis*, *Unaspis*, *Pseudaulacaspis* and *Fiorinia* consisting of 13 species and other two outgroups in China. The base frequency, base substitution and genetic distance of DNA sequence have been analyzed by using some biosoftwares such as: ClustalX 1.83, MEGA 4.0 and so on. Phylogenetic information has been tested via base substitution saturation analysis. Phylogenetic trees have been constructed with three methods, maximum parsimony (MP), neighbor-joining (NJ) and maximum likelihood (ML) on the software MEGA 4.0. 【Result】(1) The average content of T, C, A and G of *EF-1 α* of seven genera of Diaspidinae is 23.5%, 25.6%, 25.5% and 25.4% respectively. A+T content is 49% while

* [收稿日期] 2009-03-05

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30870324);西北农林科技大学创新性实验计划项目(2008022A)

[作者简介] 魏久锋(1981—),男,陕西富平人,在读博士,主要从事盾蚧科分类研究。

[通信作者] 冯纪年(1957—),男,陕西白水人,教授,博士生导师,主要从事昆虫分类及分子生物研究。

G+C content is 51%;(2)The transition (si) is 1.3 times more than the transversion (sv) of seven families of Diaspidinae. Ti substitution mainly occurs between A and G and Tv usually occurs between A and T. (3) All the phylogenetic trees (NJ,MP and ME) show essentially the same topology,and that the lineages and the sublineages on the trees are linked tightly consistent with the taxonomically defined families and genera based on morphologies.【Conclusion】 The gene is a valid one which can be applied in molecular phylogeny on genus of Diaspidine.

Key words: Diaspidinae;nuclear gene;EF-1a gene;molecular phylogeny

盾蚧亚科(Diaspidinae)属半翅目(Hemiptera)盾蚧科(Diaspididae),其中大多数种类是农作物、森林植物、果树、绿化观赏植物和花卉上的重要害虫。盾蚧(盾蚧科的简称)作为一类重要的检疫害虫已引起人们的极大关注。因此,开展此类昆虫的分类研究有着重要的经济意义^[1]。

以往对盾蚧亚科的系统学研究大部分都是基于形态学方面的证据,各个分类学家对属间的划分意见并不统一^[2-5]。近年来,国内外学者广泛采用分子标记来研究系统发生关系,EF-1a 基因是一种编码蛋白的核基因。由于氨基酸序列的保守性,EF-1a 被看作一个有潜力的研究高级阶元系统发育,特别是昆虫高级阶元系统发育的基因;EF-1a 基因中存在一些进化速度比较快的内元,因此用其也可以分析低阶元的系统发育问题^[6-9]。鉴于昆虫的 EF-1a 基因在较广的分歧范围内都有信息位点,并且在分子系统学中也得到了广泛应用,Caterino 等主张将

其作为昆虫分子系统学研究中的标准分子标记^[10]。为了研究我国盾蚧亚科各属间的分子系统发生关系,本试验测定了中国盾蚧亚科 7 属 13 种蚧虫的 EF-1a 基因,并在此基础上探讨了其的系统发生关系,现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材 料

本研究从分子进化和分子系统学角度入手,对分布于中国的盾蚧亚科 7 个属(白轮蚧属(*Aulacaspis*)、盾蚧属(*Diaspis*)、雪盾蚧属(*Chionaspis*)、围盾蚧属(*Fiorinia*)、并盾蚧属(*Pinnaspis*)、拟轮蚧属(*Pseudaulacaspis*)、矢尖蚧属(*Unaspis*))13 种蚧虫以及 2 个外群(片盾蚧亚科、片盾蚧属)的 EF-1a 基因进行特异性扩增和测序。以上昆虫标本均由作者采集或西北农林科技大学昆虫博物馆标本馆提供。标本名称和来源详见表 1。

表 1 供试昆虫标本的来源及分类
Table 1 Location and classification of the tested insect samples

编号 No.	种名 Name species	采集地 Collection location
1	<i>Aulacaspis diglandularis</i>	贵州梵净山 Fanjing Mountain,Guizhou Prov.
2	<i>Aulacaspis spinosa</i>	福建武夷山 Wuyi Mountain,Fujian Prov.
3	<i>Aulacaspis difficillis</i>	陕西秦岭 Qinling Mountain,Shaanxi Prov.
4	<i>Diaspis echinocacti</i>	云南 Yunan Prov.
5	<i>Chionaspis salicis</i>	吉林通化 Tonghua City,Jilin Prov.
6	<i>Fiorinia theae</i>	福建武夷山 Wuyi Mountain,Fujian Prov.
7	<i>Fiorinia externa</i>	吉林 Jilin Prov.
8	<i>Pinnaspis bux</i>	云南勐仑 Menglun Autonomous County,Yunnan Prov.
9	<i>Pinnaspis strachani</i>	云南景洪 Jinghong Autonomous County,Yunnan Prov.
10	<i>Pinnaspis aspidistrae</i>	广西南宁 Nanning City,Guangxi Prov.
11	<i>Pseudaulacaspis pentagona</i>	贵州花溪 Huaxi Country,Guizhou Prov.
12	<i>Pseudaulacaspis cockerelli</i>	浙江天目山 Tianmu Mountain,Zhejiang Prov.
13	<i>Unaspis euonymi</i>	陕西杨凌 Yangling,Shaanxi Prov.
14	<i>Parlatoria pseudaspidotus</i>	浙江临安 Linan City,Zhejiang Prov.
15	<i>Parlatoria pergandii</i>	福建永安 Yongan City,Fujian Prov.

1.2 方 法

1.2.1 基因组 DNA 的提取。 基因组 DNA 的提取方法参照文献[11]的方法进行,并略做修改。

(1)将虫体在 TAE 中浸泡 1~3 h 后,取出虫体

并转移至 1.5 mL 离心管中,加入 200 μ L buffer (0.4 mmol/L NaCl,10 mmol/L Tris-Cl (pH 8.0), 2 mmol/L EDTA)研磨,再用 200 μ L buffer 清洗研磨,摇匀。(2)加入 40 μ L 200 g/L 的 SDS(使用前

在 65 ℃ 水浴锅中预热),再加入 8 μL 20 mg 蛋白酶 K。(3)60~65 ℃ 水浴保持 1 h 左右后,摇匀。(4)在离心管中加入 300 μL 6 mol/L 的 NaCl,剧烈漩涡振荡 30 s。(5)于 12 000 r/min 中离心 10 min。(6)先将离心管中的上清液用移液器取出,转移至新离心管中。加入等体积的异丙醇,-20 ℃ 保持至少 1 h。(7)将离心管放入离心机中,12 000 r/min 离心 10 min,弃上清液,将 DNA 沉淀用体积分数 70% 乙醇清洗 1~2 次。(8)常温干燥,待乙醇挥发完后,加入 30 μL ddH₂O 溶解 DNA,可立即用于 PCR 分析,或者置于-20 ℃ 下保存。

表 2 *EF-1a* 基因扩增的 PCR 反应程序
Table 2 PCR reaction program of *EF-1a* gene

序号 Number	温度/℃	时间/s Time	程序 Program
(1)	94	300	
(2)	94	30	
(3)	65	30	每个循环下降 1℃ Down 1 ℃ every cycle
(4)	72	50	到 (2) 15 个循环 Go to (2) 15 cycle
(5)	94	30	
(6)	50	30	
(7)	72	50	到 (2) 15 个循环 Go to (2) 15 cycle
(8)	72	600	
(9)	4		For ever
(10)	end		

1.3 试验数据的处理及系统发育的重建

采用 ClustalX 1.83 和 MEGA 4.0 等系统发育分析软件,对所得 DNA 序列的碱基组成、碱基替换、遗传距离等进行遗传分析;通过碱基替换饱和性分析进行信号检验;采用最大简约法(Maximum parsimony, MP)、邻接法(Neighbor-joining Method, NJ)和最小进化法(Minimum Evolution, ME),在 MEGA 4.0 软件上对 *EF-1a* 数据集进行盾蚧亚

1.2.2 PCR 扩增及产物检测 扩增引物为 *EF-1a* 通用引物(上游引物为:5'-GATGCTCCGGGACAYAGA-3',下游引物为:5'-ATGTGAGCGGTGTGGCAATCCAA-3')[12],用其可特异性地扩增半翅目 *EF-1a* 部分基因。引物由沃尔森公司合成。反应总体积为 25 μL,其中含有 10× buffer(含 Mg²⁺)2.5 μL,上、下游引物各 1 μL,模版 DNA 3 μL, dNTP(2.5 mmol/l) 2 μL, *Taq* DNA 聚合酶(2.5 U)0.4 U,其余加无菌双蒸水。PCR 反应程序见表 2。将 PCR 产物送上海生物工程有限公司测定。

科 7 属的系统发育关系分析[12-14]。

2 结果与分析

2.1 *EF-1a* 基因的 PCR 扩增结果

根据所选取引物的位置,估计扩增片段的大小(包括引物序列)约为 1 100 bp 左右。电泳检测结果(图 1)显示,所测序列经过拼接校对,删除引物序列,13 种昆虫所扩增序列的长度为 850~1 100 bp。

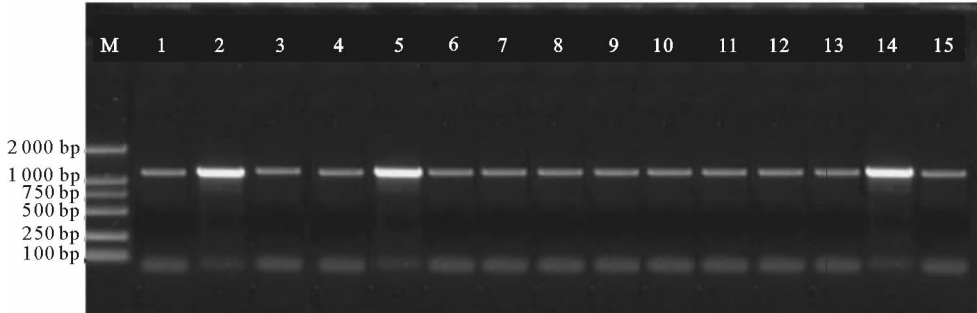


图 1 *EF-1a* 基因的扩增结果

M. Marker;1~15 分别代表供试盾蚧亚科 7 属 13 种蚧虫的供试昆虫,与表 1 中 1~15 代表的昆虫一致;下表同

Fig.1 PCR products of *EF-1a* gene

M. Marker; The 13 species of 7 genus in Diaspidinae show by 1-15;as with table 1;The same with the following table

2.2 *EF-1a* 基因序列的组成

经 MEGA 4.0 分析,盾蚧亚科及其外群 *EF-1a* 序列中不变位点数目为 549(包括外群为 517,下

同),变异位点数为 343(377),简约信息位点为 287(250),自裔位点为 91(89)。简约信息位点占总位数点的 31.8%(27.7%),T、C、A、G 平均含量分别

为 23. 5% (23. 6%), 25. 6% (25. 5%), 25. 5% (25. 5%), 25. 4% (25. 4%)。A + T 含量为 49% (49. 1%), G + C 含量为 51% (50. 9%)。

表 3 表明,在盾蚧亚科的 *EF-1a* 序列中,转换

频率是颠换频率的 1. 3(1. 3)倍,其中转换碱基数为 77(81),颠换碱基数为 59(65),转换主要发生在 A 与 G 之间,颠换主要发生在 A 与 T 之间。碱基替换饱和和分析后发现饱和性很强。

表 3 *EF-1a* 基因核苷酸不同位点的转换
Tab 3 Base subsitution of *EF-1a* Gene

数据类型 Data style	ii	si	sv	R	TT	TC	TA	TG	CC	CA	CG	AA	AG	GG
所有 All	701	81	65	1. 3	156	53	19	16	175	15	16	184	29	187
内群 Inter groups	711	77	59	1. 3	157	50	17	14	179	15	14	186	27	189

注:ii. 同等碱基数;si. 转换碱基数 sv. 颠换碱基数;R. 转换/颠换。
Note;ii. Identical paris;si. Transitionsal paris;sv. Transversional pairs;R. si/sv.

2. 3 *EF-1a* 的遗传距离

采用 MEGA 4. 0^[14] 计算 15 种盾蚧亚科(包括外群)*EF-1a* 的遗传距离,即 P 距离(Pairwise distance),结果见表 4。从表 4 可以看出,同属种间的遗传距离最小,*Aulacaspis diglandularis* 与 *Aula-*

caspis difficillis 之间的距离为 0. 041 1,*Aulacaspis* 属间的距离为 0. 039 9~0. 047 3;亚科内属间,*Aulacaspis* 与 *Pinnaspis* 间的遗传距离为 0. 166 9~0. 174 3。盾蚧亚科与其外群之间的遗传距离最大,为 0. 169 4~0. 195 5。

表 4 15 种盾蚧亚科(包括外群)*EF-1a* 的 P 距离
Table 4 P-distance of *EF-1a* for 15 species Diaspinae insect (including outgroup)

编号 No	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1															
2	0. 039 9														
3	0. 041 1	0. 047 3													
4	0. 133 3	0. 130 8	0. 127 0												
5	0. 127 0	0. 123 3	0. 123 3	0. 038 6											
6	0. 120 8	0. 120 8	0. 117 1	0. 076 0	0. 072 2										
7	0. 137 0	0. 132 0	0. 135 7	0. 140 7	0. 138 2	0. 130 8									
8	0. 173 1	0. 173 1	0. 174 3	0. 180 6	0. 176 8	0. 173 1	0. 159 4								
9	0. 168 1	0. 174 3	0. 166 9	0. 173 1	0. 171 9	0. 169 4	0. 160 6	0. 138 2							
10	0. 174 3	0. 169 4	0. 169 4	0. 165 6	0. 166 9	0. 155 7	0. 163 1	0. 154 4	0. 145 7						
11	0. 178 1	0. 173 1	0. 171 9	0. 179 3	0. 179 3	0. 168 1	0. 173 1	0. 151 9	0. 149 4	0. 072 2					
12	0. 185 6	0. 183 1	0. 180 6	0. 186 8	0. 183 1	0. 168 1	0. 178 1	0. 151 9	0. 159 4	0. 094 6	0. 083 4				
13	0. 178 1	0. 175 6	0. 176 8	0. 174 3	0. 174 3	0. 155 7	0. 168 1	0. 159 4	0. 159 4	0. 100 9	0. 090 9	0. 066 0			
14	0. 179 3	0. 179 3	0. 185 6	0. 186 8	0. 194 3	0. 189 3	0. 183 1	0. 184 3	0. 191 8	0. 186 8	0. 180 6	0. 195 5	0. 185 6		
15	0. 169 4	0. 176 8	0. 171 9	0. 186 8	0. 194 3	0. 181 8	0. 180 6	0. 180 6	0. 184 3	0. 183 1	0. 173 1	0. 191 8	0. 194 3	0. 146 9	

2. 4 *EF-1a* 数据组系统发育的信号检验

EF-1a 碱基替换饱和性分析结果见图 2 和 3。

从图 2 和 3 可以看出,各序列之间的差异度与 P 距离间呈线性关系,碱基替换未达到饱和^[15-16]。

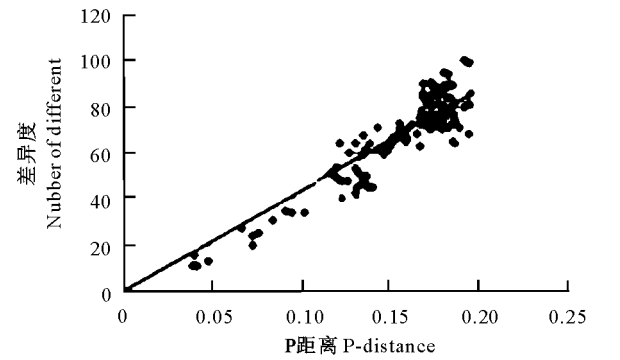


图 2 *EF-1a* 转换碱基数与 P-distance 的关系
Fig. 2 Relation between Ti and P-distance of *EF-1a*

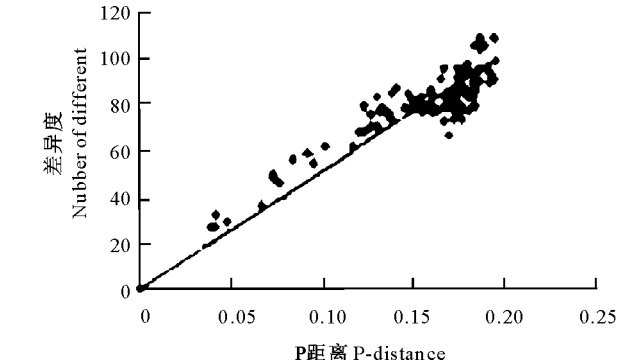


图 3 *EF-1a* 颠换碱基数与 P-distance 的关系
Fig. 3 Relation between Tv and P-distance of *EF-1a*

2.5 基于 *EF-1a* 系统发育的重建

对 *EF-1a* 基因序列数据,在 MEGA 4.0 中采用启发式搜索方法搜索树^[14],序列添加方式为随机添加,1 000 次重复抽样进行自举检验,构建 MP 树;采用 kimure-2 校正距离,用 NJ 法重建系统发育,

1 000 次重复抽样进行自举检验,构建 NJ 树;基于 Jukes-Cantor 单参数模型,用 ME 法建树,自举检测 1 000 次,结果见图 4~6(各节点处的数字表示分化支持率)。

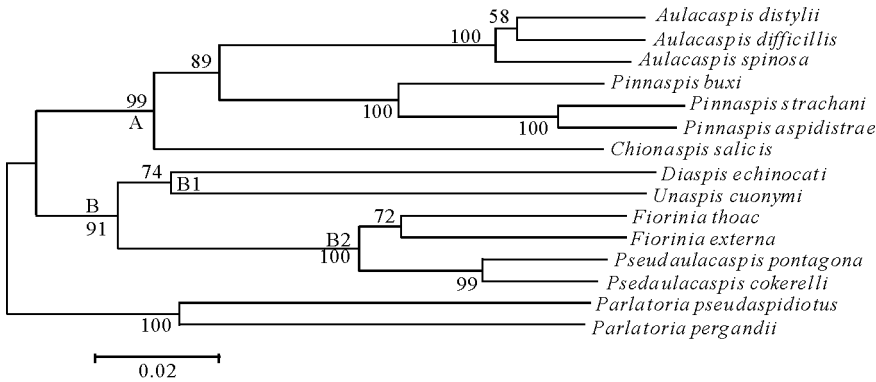


图 4 基于 *EF-1a* 构建的盾蚧亚科 7 属 MP 树

Fig. 4 MP consensus tree of *EF-1a* sequences of seven Diaspidinae families

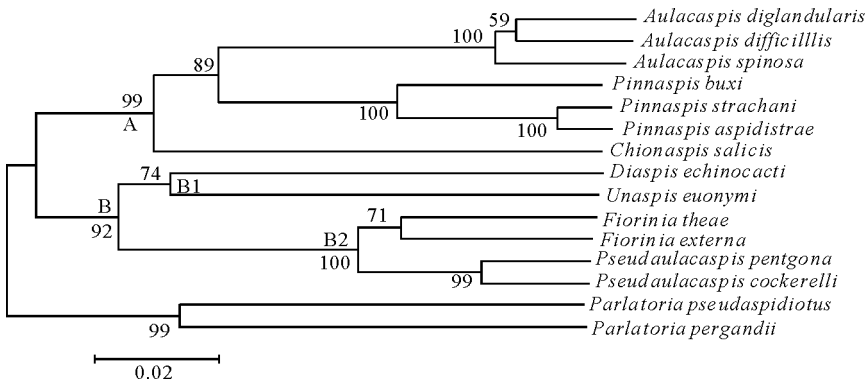


图 5 基于 *EF-1a* 构建的盾蚧亚科 7 属 NJ 树

Fig. 5 NJ consensus tree of *EF-1a* sequences of seven Diaspidinae families

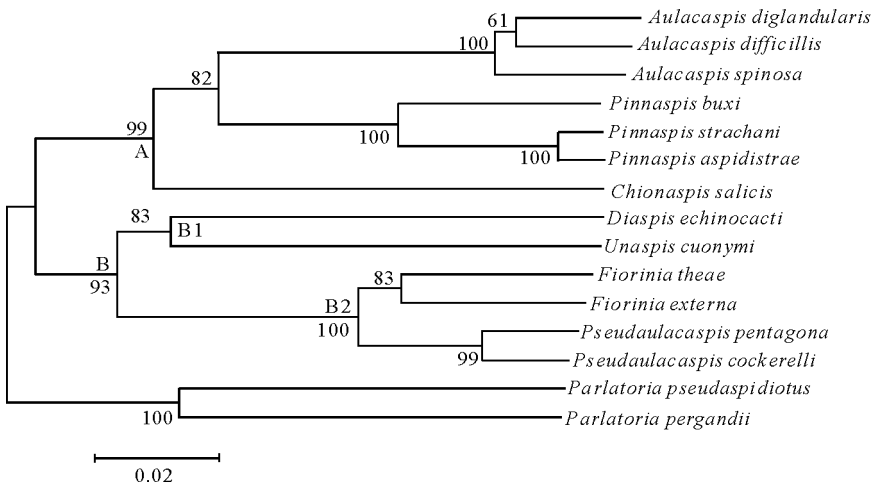


图 6 基于 *EF-1a* 构建的盾蚧亚科 7 属 ME 树

Fig. 6 ME consensus tree of *EF-1a* sequences of seven Diaspidinae families

从系统发育树(图 4~6)中可以看出,在 A 类群中,雪盾蚧属(*Chionaspis*)是较早分化的一支,分化支持率在 MP 树、NJ 树和 ME 树中均为 99%;随后白轮蚧属(*Aulacaspis*)和并盾蚧属(*Pinnaspis*)产生分化。B 类群分为 B1 和 B2 两个类群,其中盾蚧属(*Diaspis*)和矢尖蚧属(*Unaspis*)聚为一支,分化支持率在 MP 树、NJ 树、ME 树中分别为 74%,74%和 83%,均大于 50%。B2 类群中,围盾蚧属(*Fiorinia*)和拟轮蚧属(*Pseudaulacaspis*)分化支持率为 100%。

3 讨 论

从形态学上看,汤枋德^[4]系统将白轮蚧属、并盾蚧属和雪盾蚧属隶属于雪盾蚧族,盾蚧属和矢尖蚧属隶属于盾蚧族,围盾蚧属隶属于围盾蚧族,拟轮蚧属隶属于拟雪盾蚧族。

在周尧^[1]系统中,矢尖蚧属(*Unaspis*)、雪盾蚧属(*Chionaspis*)和并盾蚧属(*Pinnaspis*)同属于雪盾蚧亚科雪盾蚧族,盾蚧属(*Diaspis*)、拟轮蚧属(*Pseudaulacaspis*)和白轮蚧属(*Aulacaspis*)隶属于盾蚧亚科盾蚧族,围盾蚧属(*Fiorinia*)属于隶属于围盾蚧亚科围盾蚧族。

从本研究的系统发育树可以看出,白轮蚧属(*Aulacaspis*)、并盾蚧属(*Pinnaspis*)和雪盾蚧属(*Chionaspis*)属同一支,盾蚧属(*Diaspis*)和矢尖蚧属(*Unaspis*)属同一支,围盾蚧属(*Fiorinia*)和拟轮蚧属(*Pseudaulacaspis*)属同一支。

本研究中,A 类群中的棉并盾蚧(*Pinnaspis strachan*)和柑桔并盾蚧(*Pinnaspis aspidistrae*)聚为一支,且分化支持率为 100%。从形态学上看,该两种区别在于:前者雌蚧壳白色或灰色,肛前疤明显,中叶相对较大;而后者雌蚧壳褐色,肛前疤不明显或略显,中叶相对较小。汤枋德^[17]曾指出,这 2 个种可能是同种变异型。

本研究结果与传统的形态学分析结果存在一定差异,可能是因为盾蚧的雌成虫为适应不同的生活条件而形态变异很大,并且趋于简化,原来的一部分形态构造到雌成虫时期大部分已经消失,所剩的仅是一些适应特征,而与亲缘关系密切的特征很少,根据同表构造进行分类,就不能反映各类群之间的系统关系。本研究仅对核基因 *EF-1a* 序列进行了测定,使用的是限定性的“部分”研究结果来分析或推断种类之间的相互关系,只是为现行分类系统提供了初步的分子证据。对于盾蚧亚科分子系统学的研

究,特别是对系统演化关系及分歧时间的探讨,还有待于进行更广泛、更深入的研究。

[参考文献]

- [1] 周 尧. 中国盾蚧志:卷 1 [M]. 西安:陕西科学技术出版社, 1982.
Chou I O. Armred scale insect fauna of China: Vol. 1 [M]. Xi'an: Shaanxi Science and Technology Press, 1982. (in Chinese)
- [2] 周 尧. 中国盾蚧志:卷 2 [M]. 西安:陕西科学技术出版社, 1985.
Chou I O. Armred scale insect fauna of China: Vol. 2 [M]. Xi'an: Shaanxi Science and Technology Press, 1985. (in Chinese)
- [3] 周 尧. 中国盾蚧志:卷 3 [M]. 西安:陕西科学技术出版社, 1986.
Chou I O. Armred scale insect fauna of China: Vol. 3 [M]. Xi'an: Shaanxi Science and Technology Press, 1986. (in Chinese)
- [4] 汤枋德. 中国园林主要蚧虫:第一卷 [M]. 山西太原:山西农学院, 1977.
Tang F D. The scale insects of horticulture and forest of China: Vol 1 [M]. Taigu, Shanxi: Shanxi Agricultural University, 1977. (in Chinese)
- [5] 曾 涛. 中国盾蚧亚科分类研究 [D]. 陕西杨凌:西北农业大学, 1998.
Zeng T. A Taxonomic study on the subfamily diaspidinae from China [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest Agriculture University, 1998. (in Chinese)
- [6] 刘殿锋, 蒋国芳. 核基因序列在昆虫分子系统学上的应用 [J]. 动物分类学报, 2005, 30(3): 484-492.
Liu D F, Jiang G F. The application of nuclear gene sequences in insect molecular systematics [J]. Acta Zootaxonomica Sinica, 2005, 30(3): 484-492. (in Chinese)
- [7] 成新跃, 周红章, 张广学. 分子生物学技术在昆虫系统学中的应用 [J]. 动物分类学报, 2000, 25(2): 121-130.
Chen X Y, Zhou H Z, Zhang G X. Molecular biological techniques applied in insect systematics [J]. Zoological Research, 2000, 25(2): 121-130. (in Chinese)
- [8] Simon C. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial sequences and a compilation of conserved Polymerase chain reaction Primers [J]. Ann Entomol Soc Ame, 1994, 87(6): 650-701.
- [9] Geofrey B B. A molecular phylogenetic of armoured scale insects (Hemiptera: Diaspididae) [J]. Systematic Entomology, 2006, 31: 338-349.
- [10] Aljanabi S M, Martinez. Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques [J]. Nucleic Acids Res, 1997, 25(22): 4692-4693.
- [11] 安瑞生, 谭声江, 陈晓峰. 小型昆虫 DNA 提取时匀浆方法的改进 [J]. 昆虫知识, 2002, 39(4): 311-312.
An R S, Tang S J, Chen X F. Improvement in grinding tissue during extracting DNA from small insects [J]. Chinese Bulletin of Entomology, 2002, 39(4): 311-312. (in Chinese)
- [12] Kumar S, Tamura K, Jakobsen I B, et al. MEGA2: molecular

evolutionary genetics analysis softwar [J]. Bioinformatic, 2001,17(12):1244-1247.

[13] 黄原. 分子系统学——原理、方法及应用 [M]. 北京:中国农业出版社,1998.
Huang Y. Molecular Systematics—theory, method and application [M]. Beijing, China Agricultural Press, 1998. (in Chinese)

[14] 张亚平. 从 DNA 序列到物种树 [J]. 动物学研究, 1996, 17(3):247-252.
Zhang Y P. From From DNA sequences to species trees [J]. Zoological Research, 1996, 17(3):247-252. (in Chinese)

[15] Sanchis A, Michelena J M, Latorre A, et al. The phylogenetic analysis of variable-length sequence data: elongation factor-1a introns in Euro-pean Populations of the parasitoid wasp genus *Pauesia* (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae) [J]. Mol Biol Evol, 2001, 18(6):1117-1131.

[16] Rowan R G, Hunt J A. Rates of DNA change and phylogeny from the DNA sequences of the alcohol dehydrogenase gene for five closely related species of *Hawaiian Drosophila* [J]. Mol Biol Evol, 1991, 8(1):49-70.

[17] 汤枋德. 中国园林主要蚧虫: 第二卷 [M]. 山西太谷: 山西农学院, 1986.
Tang F D. The scale insects of horticulture and forest of China: Vol 2 [M]. Taigu, Shanxi; Shanxi Agricultural University, 1986. (in Chinese)

(上接第 148 页)

[9] Malthus T J, Maderia A C. High resolution spectral diometry: Spectral reflectance of field bean leaves infected by botrytis fabae [J]. Remote Sens Environ, 1993, 45:107-116.

[10] 吴继友, 倪健. 松毛虫危害的光谱特征与虫害早期探测模式 [J]. 环境遥感, 1995, 10(4):250-258.
Wu J Y, Ni J. Spectral characteristics of the pine leaves damaged by pine moth and a model for detecting the damage early [J]. Environment Remote Sensing, 1995, 10(4):250-258. (in Chinese)

[11] 刘良云, 黄木易, 黄文江. 利用多时相的高光谱航空图像监测冬小麦条锈病 [J]. 遥感学报, 2004, 8(3):275-281.
Liu L Y, Huang Y M, Huang W J. Monitoring stripe rust disease of winter wheat using multi-temporal hyperspectral airborne data [J]. Journal of Remote Sensing, 2004, 8(3):275-281. (in Chinese)

[12] 蒋金豹, 陈云浩, 黄文江. 利用高光谱微分指数进行冬小麦条锈病病情的诊断研究 [J]. 光学技术, 2007, 33(4):620-623.

Jiang J B, Chen Y H, Huang W J. Using hyperspectral derivative indices to diagnose severity of winter wheat stripe rust [J]. Optical Technique, 2007, 33(4):620-623. (in Chinese)

[13] 何勇, 李晓丽. 基于主成分分析和神经网络的近红外光谱苹果品种鉴别方法研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2006, 26(5):850-853.
He Y, Li X L. Discrimination of varieties of apple using near infrared spectra based on principal component analysis and artificial neural network model [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2006, 26(5):850-853. (in Chinese)

[14] 吴彤, 倪绍祥, 李云梅. 基于地面高光谱数据的东亚飞蝗危害程度监测 [J]. 遥感学报, 2007, 11(1):103-108.
Wu T, Ni S X, Li Y M. Monitoring of the damage intensity extent by oriental migratory locust using of hyper-spectra data measured at ground surface [J]. Journal of Remote Sensing, 2007, 11(1):103-108. (in Chinese)