

# 水葱新害虫——黑粒脉蜡蝉形态及 DNA 条形码研究

吕莎莎<sup>1,2,3</sup>, 陈祥盛<sup>1,2,3\*</sup>

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

**摘要:** 本文报道发生在贵州省威宁县草海国家级自然保护区水葱 *Schoenoplectus tabernaemontani* 上的 1 种新害虫——黑粒脉蜡蝉 *Nisia fuliginosa* 的形态及其 DNA 条形码。详细描述了黑粒脉蜡蝉卵、若虫及成虫的主要形态特征;同时通过 PCR 获取黑粒脉蜡蝉的线粒体 *CO I* 基因序列;运用 MEGA 6.0 分析其序列组成及遗传距离,以 *Nisia* sp. 和 *Phaconeura* sp. 2 种粒脉蜡蝉科 Meenoplidae 昆虫为外群,采用邻接法构建系统发育树。系统发育树显示,黑粒脉蜡蝉 6 个样品(卵、若虫及成虫)的 *CO I* 基因序列能较好地聚为一支,且可明显与其他种类区分开来;遗传距离分析结果表明,黑粒脉蜡蝉种内遗传距离为 0,3 种粒脉蜡蝉科昆虫种间遗传距离为 0.166 8~0.236 1,种内遗传距离与种间遗传距离不存在重叠现象。初步证实了 *CO I* 基因序列可作为 DNA 条形码片段,从而实现黑粒脉蜡蝉卵、若虫及成虫快速而准确的物种鉴定。此外,本文还报道了黑粒脉蜡蝉在水葱上的危害状况。

**关键词:** 水葱; 黑粒脉蜡蝉; 形态特征; DNA 条形码; 危害状况

中图分类号: Q969.35; S433.3 文献标志码: A 文章编号: 1000-7083(2021)02-0130-11

## Morphology and DNA Barcode of *Nisia fuliginosa* Yang & Hu, 1985, A New Pest of *Schoenoplectus tabernaemontani*

LYU Shasha<sup>1,2,3</sup>, CHEN Xiangsheng<sup>1,2,3\*</sup>

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

**Abstract:** Morphology and DNA barcode of *Nisia fuliginosa*, Yang & Hu, 1985, a new insect pest of *Schoenoplectus tabernaemontani* in the Caohai Wetland National Nature Reserve, Weining, Guizhou Province, were reported. The morphological characteristics of *N. fuliginosa* (eggs, nymphs and adults) were described in detail. The *CO I* sequence of *N. fuliginosa* were obtained by PCR, sequence compositions and genetic distances were analyzed, and the phylogenetic tree of 3 meenoplid species constructed by MEGA 6.0 using Neighbor-Joining methods was provided, *Nisia* sp. and *Phaconeura* sp. 2 species were chosen as outgroups. The results showed that the *CO I* sequences of 6 *N. fuliginosa* samples were clustered in the same evolutionary branches, and clearly distinguished from other species. The intraspecific genetic distances of *N. fuliginosa* was 0, whereas the interspecific genetic distances of the 3 meenoplid species was 0.166 8–0.236 1 and no overlapped genetic distance was detected between intraspecific and interspecific. Moreover, the damage symptoms of *N. fuliginosa* were introduced. This study suggests that the sequence of *CO I* gene can be used as a DNA barcode for the fast and

收稿日期:2020-07-04 接受日期:2021-01-04

基金项目:贵州省高层次创新型人才项目(黔科合人才 20154021)

作者简介:吕莎莎(1998—), 硕士研究生, 研究方向: 节肢动物系统学与分子生物学, E-mail:ls13116322648@163.com

\* 通信作者 Corresponding author, E-mail:chenxs3218@163.com

accurate identification of the eggs, nymphs and adults of *N. fuliginosa*.

**Keywords:** *Schoenoplectus tabernaemontani*; *Nisia fuliginosa*; morphological characteristic; DNA barcode; damage symptoms

水葱 *Schoenoplectus tabernaemontani* 为莎草科 Cyperaceae 水葱属 *Schoenoplectus* 植物,在我国分布较广泛,是南方湿地常见的优势水生植物。水葱具有较高的经济价值,其所含樟脑、苯乙烯、龙脑、肉豆蔻等药用成分对微生物有广泛和明显的抑菌作用;地上部分可入药,主治水肿胀满,前列腺增生症,能明显改善下尿路症状,减少残余尿量,增加尿流率,小便不利(刘鹏岩,傅承光,1992;范铮等,2013;顾懿宁等,2013);地下块茎是湿地越冬候鸟的重要食物来源,也是稳定湿地生态系统的主要物种之一(李凤山等,1997);茎秆可做插花的线条材料,也可用做造纸或编织草席的材料。此外,水葱可通过根系的吸附作用去除水体中的重金属,从而达到净化水源的作用(杨倩,2009;任珺等,2010,2011)。2017年作者在贵州省威宁县草海国家级自然保护区采集调查时,发现1种严重危害草海湿地优势作物水葱的蜡蝉,经鉴定为黑粒脉蜡蝉 *Nisia fuliginosa* Yang & Hu, 1985, 隶属于半翅目 Hemiptera 头喙亚目 Auchenorrhyncha 蜡蝉总科 Fulgoro-

idea 粒脉蜡蝉科 Meenoplidae 粒脉蜡蝉属 *Nisia* (杨莲芳,胡春林,1985)。粒脉蜡蝉属 *Nisia* Melichar, 1903 全世界共记录 22 个种,中国已知 5 种(胡春林,杨莲芳,1993;Bourgoin,2020)。粒脉蜡蝉属种类的外部形态非常相似,主要依据雄性外生殖器特征进行种类的准确鉴定。目前关于黑粒脉蜡蝉的形态描述相对简单,除成虫以外的其他虫态未见详细报道;而有关粒脉蜡蝉科昆虫的 DNA 条形码研究较少。为此,本文对黑粒脉蜡蝉的卵、若虫及成虫的形态特征进行了详细描述,并对其线粒体 *CO I* 基因序列进行了测定与分析,同时对该害虫的危害状况进行了初步观察,旨在为该害虫的分类鉴定和防控提供参考资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

用于研究的形态学材料和分子材料均来自于研究期间所获标本(包括 *Nisia* sp.)(表 1),样品保存于贵州大学昆虫研究所(IEGU)。

表 1 本研究供试昆虫的采集信息  
Table 1 Collecting information of insects in this study

序号 No.	种类 Species	测试虫态 Stage	采集地 Locality	采集日期 Date	GenBank 登录号 GenBank accession number
1	黑粒脉蜡蝉 <i>Nisia fuliginosa</i>	成虫	贵州草海	2018/08/16	MT582808
2	黑粒脉蜡蝉	若虫	贵州草海	2018/09/21	MT582803
3	黑粒脉蜡蝉	若虫	贵州草海	2018/10/20	MT582804
4	黑粒脉蜡蝉	若虫	贵州草海	2018/10/20	MT582805
5	黑粒脉蜡蝉	若虫	贵州草海	2019/01/19	MT582806
6	黑粒脉蜡蝉	卵	贵州草海	2019/01/19	MT582807
7	<i>Nisia</i> sp.	成虫	贵州荔波	2018/10/20	MT582809

### 1.2 实验方法

**1.2.1 形态特征观察** 卵、若虫及成虫外部形态特征在 Leica MZ 12.5 体视显微镜下观察,体躯量度在测微尺下进行测量,各虫态整体及部分形态特征图像通过 KEYENCE VHX-1000C 数码成像系统

和 NIKON SMZ 25 数码相机获得;生殖节解剖时,在 Leica MZ 12.5 体视显微镜下将昆虫腹部朝上,用昆虫解剖针或尖头解剖镊子插入胸腹结合处,轻轻撬开,将昆虫腹部取下,放入 10% NaOH 溶液中,室温下放置 3~5 h 或煮沸 1~3 min(时间视标

本的骨化程度而定,煮沸时要防止标本随溶液沸腾飞溅而出),清水洗净后用吸水纸吸去水分,置于放有甘油的单凹玻片上(可在甘油内放少量棉丝,便于观察和固定形态),在解剖镜下调整好各部分姿势后,观察并绘制草图,草图绘制好后,利用硫酸纸对所绘草图进行覆墨,后用 CanoScan LiDE100 扫描仪扫描,再利用 Adobe Photoshop 8.0 处理、排版。

**1.2.2 基因组 DNA 提取、PCR 扩增及测序** 取出用 75% 乙醇浸泡的冷冻(-20 °C)黑粒脉蜡蝉成虫、若虫及卵,并在解剖镜下用解剖针去掉成虫腹部,取头胸部用动物基因组 DNA 提取试剂盒(通用型)(昆明硕擎生物科技有限公司)提取基因组 DNA。线粒体 *CO I* 基因 PCR 扩增引物序列 F: 5'-GTA-AAACGACGGCCAGTTCWACWAAYCAYAARGAYAT YGG-3', R: 5'-CAGGAAACAGCTATGACGWARAA TWARAATRTAWACYTCDGG-3'。以总 DNA 为模板,通用引物参考 GenBank 上已发表的粒脉蜡蝉科昆虫的引物序列设计,T100™ Thermal Cycler 型 PCR 扩增仪进行线粒体 *CO I* 基因片段的扩增,反应总体积为 30 μL;上、下游引物各 1 μL, DNA 模板 3 μL, Taq PCR Master Mix 25 μL;94 °C 5 min;94 °C 1 min, 53 °C 1 min, 72 °C 1 min, 35 个循环;72 °C 10 min。PCR 样品经检测合格后送上海生工生物科技有限公司双向测序。

**1.2.3 *CO I* 基因序列处理,遗传距离的计算及系统发育树的构建** 运用 DNA Star 5.0 对测序所得序列进行拼接和校对,利用 MEGA 6.0 计算遗传距离,并运用邻接法(Neighbor-Joining, NJ)构建系统发育树(Tamura *et al.*, 2013; 丁永顺等, 2018)。

**1.2.4 危害状况观察** 2017 年 8 月—2019 年 1 月,在贵州省威宁县草海国家级自然保护区对黑粒脉蜡蝉的危害状况进行研究,以晴天观察为宜,通过目测和扫网的方式进行,记录危害状况并拍照。

## 2 结果与分析

### 2.1 形态学特征

**2.1.1 卵(图 1:A)** 卵长 0.39 ~ 0.42 mm, 宽

0.23 ~ 0.29 mm;长椭圆形,黄色。

### 2.1.2 若虫(图 1:B ~ F;表 2)

#### 1 龄若虫(图 1:B)

体长:0.45 ~ 0.54 mm,体宽:0.28 ~ 0.32 mm。

体色:体灰白色,初孵若虫身体偏透明,可见虫体内腹部部分器官,大多外形轮廓明显,胸、腹部可明显区分;复眼较小,卵圆形,血红色。

头部:头顶较小,前、后缘近平直,侧脊上具感觉窝,中侧脊与基缘相交;额长大于宽,侧脊具感觉窝 13 ~ 14 个;唇基三角形,喙长,末端超过腹中部或到达腹部末端。触角短,第 1 节宽大于长,其上具多个感觉器官,鞭节最后 1 节笔尖状,较其他节宽大。

胸部:前胸背板具有明显的轮廓,前胸背板呈“八”字形位于两侧,侧脊较模糊,每侧具 11 个感觉窝,其中内缘内侧各具 1 个,后侧角各具 3 个,前缘 3 个,后缘 4 个;中胸背板较小,没有侧脊,后缘较平直,没有明显的翅芽,两侧各具 4 个感觉窝,1 个距离内缘较近,2 个位于中部,相距较远,1 个靠近外缘;后胸背板较中胸背板宽大,两侧分别具 3 个感觉窝,彼此相距较远,后足刺式为 4-3-1。

腹部:具 9 个腹节,第 4 腹节最宽,依次向两侧变窄,第 1 ~ 3, 9 腹节不具感觉窝,第 4 ~ 8 腹节两侧各具 2 个感觉窝。

#### 2 龄若虫(图 1:C)

体长:0.56 ~ 0.76 mm,体宽:0.35 ~ 0.41 mm。

体色:体灰黄色,复眼紫红色。

额侧脊具 15 ~ 16 个感觉窝;触角比 1 龄若虫稍长;前胸背板具 14 个感觉窝,后侧角各具 4 个,前缘 5 个,侧脊明显存在;中胸背板具 7 个感觉窝,2 个距离内缘较近,4 个感觉窝分别以 2 个相距较近的形式位于中部,侧脊较明显;后胸背板具 4 个感觉窝,且彼此间都相距较远,侧脊较模糊;后足刺式为 4-3-2;第 4 ~ 7 腹节两侧各具 3 个感觉窝,第 8 腹节具 2 个感觉窝。

#### 3 龄若虫(图 1:D)

体长:0.92 ~ 1.03 mm,体宽:0.51 ~ 0.60 mm。



图 1 黑粒脉蜡蝉卵及若虫

Fig. 1 Egg and nymphs of *Nisia fuliginosa*

A. 卵 egg, B. 1 龄若虫, 背面观 first instar nymph, dorsal view, C. 2 龄若虫, 背面观 second instar nymph, dorsal view, D. 3 龄若虫, 背面观 third instar nymph, dorsal view, E. 4 龄若虫, 背面观 fourth instar nymph, dorsal view, F. 5 龄若虫, 背面观 fifth instar nymph, dorsal view; 比例尺 scale bars; A = 0.1 mm, B, C = 0.2 mm, D, E, F = 0.5 mm

表 2 黑粒脉蜡蝉各龄期形态特征比较

Table 2 Comparison of morphological characteristics of *Nisia fuliginosa* at different stages

龄期 Stage	长度 Length/mm	体色 Body color	翅芽是否形成 Whether the forewing-pad was formed or not	后足刺式 Spinal formula of hind leg	感觉窝数量(单侧) Number of sensory pits (unilateral)
1 龄 若虫	体长: 0.45 ~ 0.54 体宽: 0.28 ~ 0.32	体灰白色, 复眼血红色	否	4-3-1	额侧脊: 13 ~ 14 个; 前胸背板: 11 个; 中胸背板: 4 个; 后胸背板: 3 个; 第 4 ~ 8 腹节: 2 个
2 龄 若虫	体长: 0.56 ~ 0.76 体宽: 0.35 ~ 0.41	体灰黄色, 复眼紫红色	否	4-3-2	额侧脊: 15 ~ 16 个; 前胸背板: 14 个; 中胸背板: 7 个; 后胸背板: 4 个; 第 4 ~ 7 腹节: 3 个; 第 8 腹节: 2 个
3 龄 若虫	体长: 0.92 ~ 1.03 体宽: 0.51 ~ 0.60	体棕黄色, 复眼紫红色	是	5-4-3	额侧脊: 17 ~ 18 个; 前胸背板: 17 个; 中胸背板: 13 个; 后胸背板: 5 个; 第 4 ~ 7 腹节: 5 个; 第 8 腹节: 4 个
4 龄 若虫	体长: 1.02 ~ 1.47 体宽: 0.64 ~ 0.87	体黑棕色, 复眼紫红色	是	8-6-5	额侧脊: 19 ~ 20 个; 前胸背板: 20 个; 中胸背板: 16 个; 后胸背板: 6 个; 第 4 ~ 7 腹节: 7 个; 第 8 腹节: 4 个
5 龄 若虫	体长: 1.55 ~ 2.03 体宽: 0.93 ~ 1.26	体黑棕紫色, 复眼内层紫色, 外层银白色	是	10-7-6	额侧脊: 19 ~ 20 个; 前胸背板: 22 个; 中胸背板: 19 个; 后胸背板: 7 个; 第 4 ~ 7 腹节: 7 个; 第 8 腹节: 4 个

体色:体棕黄色,复眼紫红色。

侧脊具 17~18 个感觉窝;触角每节都比 2 龄若虫稍宽稍长;前胸背板具 17 个感觉窝,后侧角各具 6 个,前缘 6 个;中胸背板具 13 个感觉窝,3 个距离内缘较近,3 个感觉窝靠近侧脊,前侧角分布 3 个,后侧角分布 2 个,中下部具 2 个,侧脊明显存在;后胸背板具 5 个感觉窝,侧脊外侧具 2 个,侧脊不明显;前、后翅翅芽开始形成;后足刺式为 5-4-3;第 4~7 腹节两侧各具 5 个感觉窝,第 8 腹节具 4 个感觉窝。

#### 4 龄若虫(图 1:E)。

体长:1.02~1.47 mm,体宽:0.64~0.87 mm。

体色:体黑棕色,复眼紫红色。

侧脊具 19~20 个感觉窝;触角每节都比 3 龄若虫稍宽稍长;前胸背板具 20 个感觉窝,后侧角各具 8 个,前缘 7 个;中胸背板具 16 个感觉窝,4 个距离内缘较近,4 个靠近侧脊,前侧角分布 3 个,后侧角分布 3 个,中下部具 2 个;后胸背板具 6 个感觉窝,侧脊外侧具 3 个,侧脊明显存在;前翅翅芽比 3 龄若虫长 1.16 倍,后翅翅芽比 3 龄若虫长 1.08 倍;后足刺式为 8-6-5;第 4~7 腹节两侧各具 7 个感觉窝,第 8 腹节具 4 个感觉窝。

#### 5 龄若虫(图 1:F)。

体长:1.55~2.03 mm,体宽:0.93~1.26 mm。

体色:体黑棕紫色,复眼内层紫色,外层银白色。

侧脊具 19~20 个感觉窝;触角每节都比 4 龄若虫稍宽稍长;前胸背板具 22 个感觉窝,后侧角各具 9 个,前缘 8 个;中胸背板具 19 个感觉窝,5 个距离内缘较近,5 个靠近侧脊,前侧角分布 3 个,后侧角分布 3 个,中上部具 3 个;后胸背板具 7 个感觉窝,侧脊外侧具 4 个,侧脊明显存在;前翅翅芽比 3 龄若虫长 1.31 倍,后翅翅芽比 3 龄若虫长 1.59 倍;后足刺式为 10-7-6;第 4~7 腹节两侧各具 7 个感觉窝,第 8 腹节具 4 个感觉窝。

#### 2.1.2 成虫(图 2:A~E,图 3:A~G,图 4:A~F)

体长(头顶端部至前翅末端):♂ 3.1~4.95 mm

( $n=21$ ), ♀ 3.6~5.12 mm( $n=12$ )。

体色:体黑褐色(活体状态偏蓝紫色),被有稀薄白色蜡粉。头顶、额、唇基黑褐色;复眼边缘部分黄色,中部黑褐色;单眼棕黄色;前翅栗褐色,翅脉黑褐色;后翅污白色,翅脉褐色;足棕褐色;腹部黑色,侧膜黄色。

头、胸部:头部(图 2:A, D)明显窄于前胸背板,头顶基宽约为中长的 2 倍,端缘深凹呈“U”字形,侧脊高度隆起,两侧分离,其上密布感觉窝,中侧脊与基缘会合于中部,形成 2 个小三角室。额(图 2:C)长约为基宽的 2 倍,侧脊高耸,具大量感觉窝,无中脊,中单眼位于近端部中央,侧单眼(图 2:E)位于触角偏右上方;唇基三角形,无侧脊,中脊明显,到达端部,基部宽;喙长,末端伸达或超过腹部中部,端节长大于宽。触角第 1 节较宽短,圆柱形,宽约为长的 2 倍,第 2 节长为宽的 1.2 倍,约为第 1 节的 3.5 倍。前胸背板(图 2:D)宽为长的 4.8 倍,前缘至近中部略拱,后缘凹入,中脊较模糊,侧脊较中脊长且呈粗隆起。中胸背板长为前胸背板的 3.2 倍,中脊明显,侧脊消失或较模糊。前翅(图 3:A)长条形,前缘弧形,长为宽的 2.2 倍,Sc+R 脉下部具约 20 个颗粒,爪脉两侧分别排列 12~15 个颗粒,翅面见缺脉现象。后翅(图 3:C)翅脉较简单, A2 没有伸达翅缘;后足刺式为 10-8-6。

雄性外生殖器:尾节侧面观(图 3:E)棕黑色,腹缘约为背缘的 2.3 倍,前缘向后凹成弧形,后缘中部具一圆弧形突起,该突起下部颜色较上部深,上部具大量感觉窝,且具些许刚毛;肛节侧面观(图 3:E)端部向下形成 2 个齿状突起,肛刺突细长,端部较基部稍宽;背面观(图 3:B)两侧缘近乎平行,两侧基部具大量感觉窝和刚毛,弯成勺状并相互连接,连接处肛刺突形成一舌状突起。生殖刺突腹面观(图 3:F, G)粗大,外缘 1/4 处开始膨大,端部外缘骨化,内缘 1/4 处弯成钝角状,约 2/3 处有一指状突起,后向外缘弯曲,透明状,但轮廓较清楚,具许多感觉窝和些许刚毛。阳茎(图 3:D)黄褐色,中部由一长条结构围成圆圈状,上部由 2 个片状

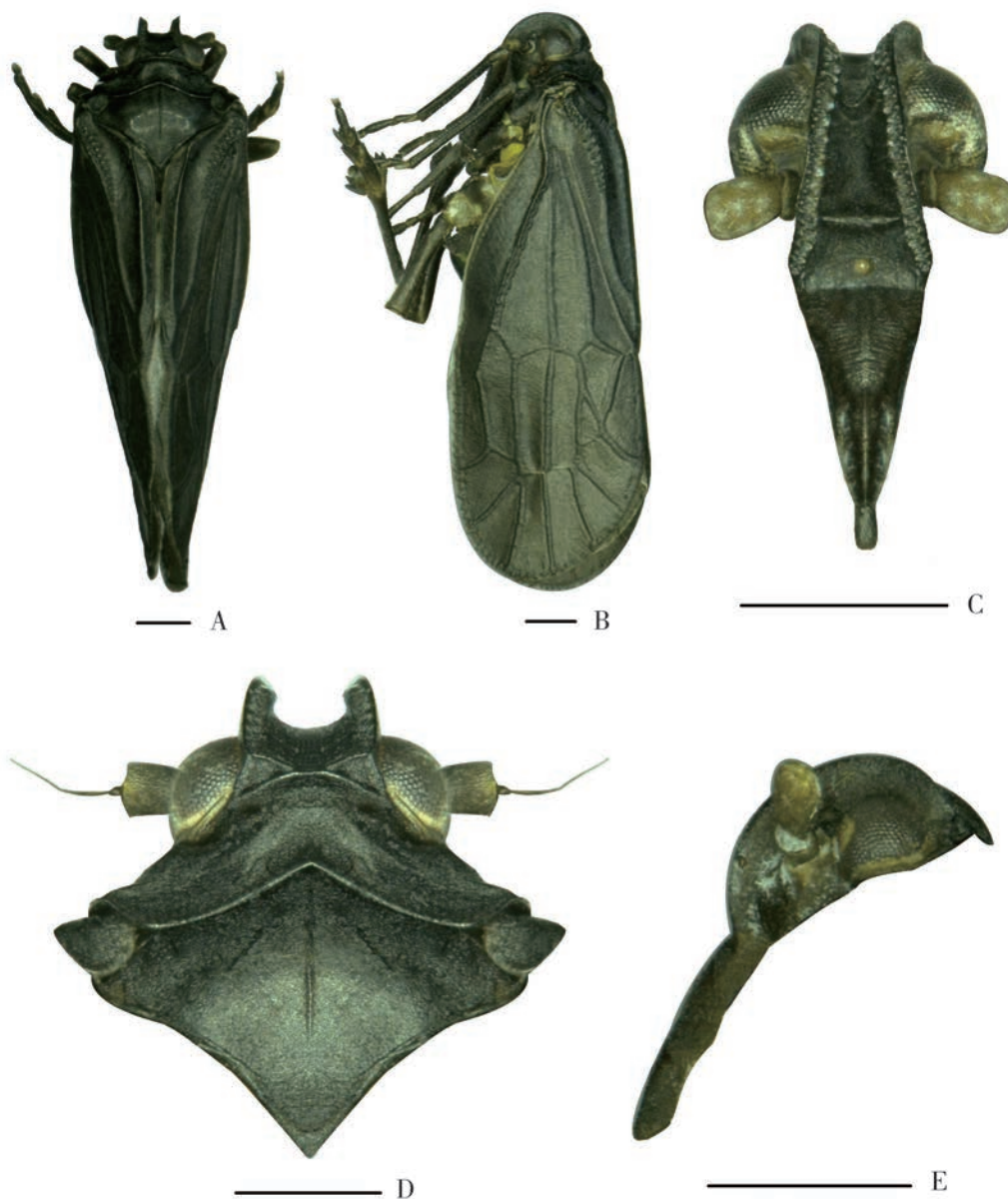


图2 雄性黑粒脉蜡蝉  
Fig. 2 Male *Nisia fuliginosa*

A. 整体背面观 whole, dorsal view, B. 整体侧面观 whole, lateral view, C. 颜面观 head, ventral view, D. 头胸部背面观 head and thorax, dorsal view, E. 头部侧面观 head, lateral view; 比例尺 scale bars = 0.5 mm

结构组成, 外侧结构外缘 1/4 处有一刺状突起, 3/4 处突然向前弯曲, 弯曲处有 3、4 个小刺状突起, 背侧结构中上部颜色深, 腹侧透明状; 下部具 3 个连接结构, 第 2 个连接结构顶端具一管状结构, 第 3 个连接结构较其他 2 个结构都长, 且末端具一膜状结构。

雌性生殖器: 生殖节侧面观(图 4:A)棕黑色,

内外缘弯曲; 生殖节后面观(图 4:B)上面部分呈三角形, 下部分两侧缘分别向内弯成弧形, 第一产卵瓣被第三产卵瓣包裹住, 顶端具一钩状突起, 第二产卵瓣和肛刺突位于近中部。肛节背面观(图 4:F)端部较基部窄, 肛刺突端部较粗; 第三产卵瓣(图 4:A, E)不规则叶状, 基部向内弯曲形成一个钝角状突起, 其上具大量感觉窝和刚毛; 第一产卵瓣

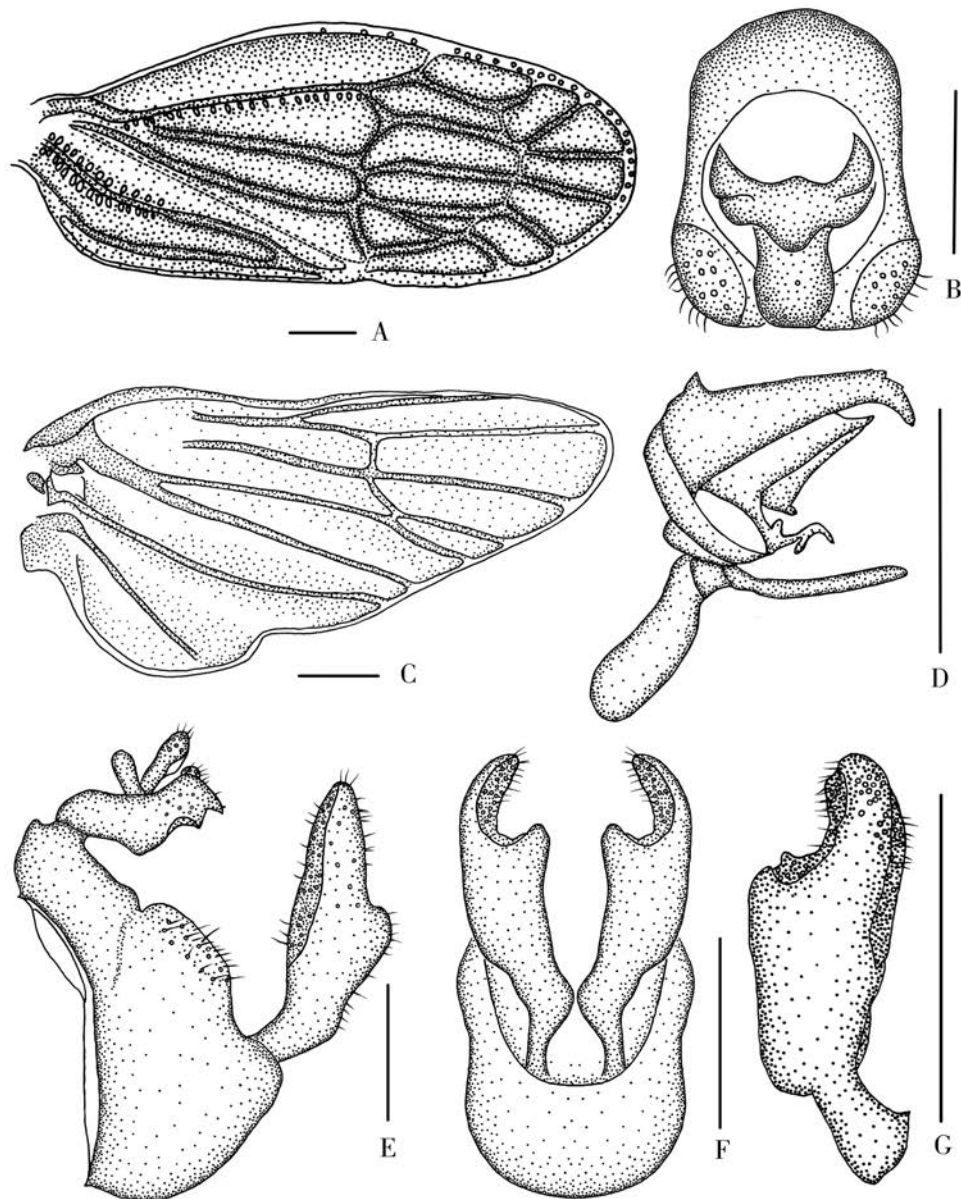


图 3 雄性黑粒脉蜡蝉  
Fig. 3 Male *Nisia fuliginosa*

A. 前翅 forewing, B. 肛节背面观 anal segment, dorsal view, C. 后翅 hindwing, D. 阳茎左侧面观 aedeagus, left lateral view, E. 雄性生殖节侧面观 male genitalia, lateral view, F. 尾节和生殖刺突腹面观 pygofer and genital style, ventral view, G. 右生殖刺突腹面观 genital style, ventral view; 比例尺 scale bars = 0.3 mm

(图 4:A,D) 扇形,末端具一小钩突起,其上具大量感觉窝和刚毛;第二产卵瓣(图 4:B,C) 结构较复杂,后面观可见下部分近中部凹入,端部向外弯成钩状;上部分端部形成 3 个突起,中部较宽大,钝圆形,外侧形成 2 个细指状突起,基部向下形成 2 个指状突起。

检视标本:共计 296 头黑粒脉蜡蝉成虫标本,

若虫标本 82 头。23 ♂♂ 37 ♀♀, 贵州威宁草海, 2016-VI-20, 姚亚林, 李洪星采; 43 ♂♂ 45 ♀♀, 贵州威宁草海, 2017-VIII-1 ~ 2, 陈祥盛, 王英鉴采; 1 ♂ 3 ♀♀, 贵州威宁草海, 2017-IX-4 ~ 5, 赵正学, 黄秀东采; 32 ♂♂ 44 ♀♀, 贵州威宁草海, 2018-VIII-13 ~ 17, 隋永金, 李洪星采; 26 ♂♂ 42 ♀♀, 若虫 22 头, 贵州威宁草海, 2018-IX-21, 吕莎莎, 汪洁采; 若虫

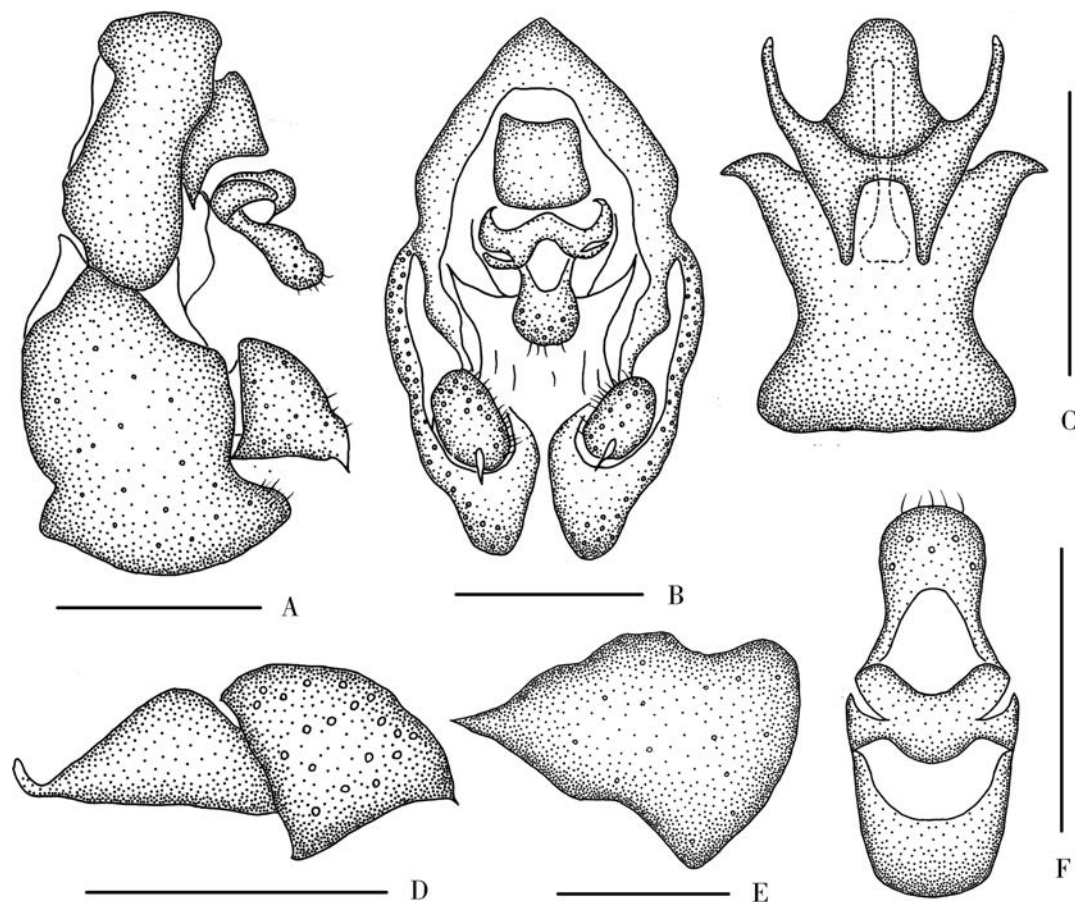


图4 雌性黑粒脉蜡蝉  
Fig. 4 Female *Nisia fuliginosa*

A. 雌性生殖节侧面观 female genitalia, lateral view, B. 雌性生殖节后面观 same, caudal view, C. 第二产卵瓣后面观 gonapophysis IX, caudal view, D. 第一产卵瓣侧面观 gonapophysis VIII, lateral view, E. 第三产卵瓣侧面观 gonoplac, lateral view, F. 肛节背面观 anal segment, dorsal view; 比例尺 scale bars = 0.2 mm

37头,贵州威宁草海,2018-X-20,吕莎莎,邓敏采;若虫23头,贵州威宁草海,2019-I-19,吕莎莎,周治成采(地理坐标:104°10'16"~104°20'40"E,26°47'32"~26°52'52"N)。12头 *Nisia* sp. 成虫标本,5♂♂7♀♀,贵州荔波茂兰,2018-X-20,陈祥盛,周治成采(地理坐标:107°37'~108°18'E,25°7'~25°9'N)。

## 2.2 CO I 序列分析结果

### 2.2.1 碱基组成分析

利用 MEGA 6.0 对本研究所获 CO I 基因序列及 NCBI 中下载序列 (KF227255) 共 8 条 CO I 基因序列的碱基组成进行分析。结果显示,该 CO I 基因序列长度为 587 bp,共检测到保守位点 (C) 456 个、变异位点 (V) 131 个、简约信息点 (PI) 33 个、自裔位点 (S)

98 个,保守位点约占总序列的 77.68%,变异位点约占总序列的 22.32%;其中,A、T、G、C 碱基平均含量分别为 34.4%、35.1%、11.9%、18.6%,A + T 含量约为 G + C 含量的 2.3 倍,表现出明显的 A + T 碱基偏倚,且 A 与 T 含量大致相当,碱基组成符合昆虫线粒体 CO I 基因的特征 (Liu & Beckenbach, 1992)。

### 2.2.2 遗传距离

利用 MEGA 6.0 对黑粒脉蜡蝉卵、若虫及成虫和其他 2 种粒脉蜡蝉昆虫共 8 个序列进行遗传距离分析,结果显示(表 3),黑粒脉蜡蝉种内遗传距离为 0,3 种粒脉蜡蝉科昆虫种间遗传距离为 0.166 8~0.236 1,种间平均遗传距离为 0.201 5,种间遗传距离显著大于种内遗传距离且



相互间不存在重叠现象。

**2.2.3 系统发育分析** 根据测序结果及 NCBI 中下载序列(KF227255),以 *Nisia* sp. 和 *Phaconeura* sp. 为外群,运用 NJ 法构建分子系统发育树。结果显示,黑粒脉蜡蝉卵、若虫和成虫 6 个样品的 *CO I* 序列

能较好地聚为一支,而后与 *Nisia* sp. 相聚,*Phaconeura* sp. 位于树的基部。从系统发育树中可以看出,黑粒脉蜡蝉不同龄期 *CO I* 基因序列差异较小,验证了黑粒脉蜡蝉各虫态的对应关系,且可以较好地与其他种类区分(图 5)。

表 3 3 种粒脉蜡蝉科昆虫 *CO I* 基因序列的遗传距离  
Table 3 Genetic distances of the *CO I* gene of 3 meenoplid species

种名	1	2	3	4	5	6	7
1. <i>N. fuliginosa</i> MT582803							
2. <i>N. fuliginosa</i> MT582804	0						
3. <i>N. fuliginosa</i> MT582805	0	0					
4. <i>N. fuliginosa</i> MT582806	0	0	0				
5. <i>N. fuliginosa</i> MT582807	0	0	0	0			
6. <i>N. fuliginosa</i> MT582808	0	0	0	0	0		
7. <i>Nisia</i> sp. MT582809	0.166 8	0.166 8	0.166 8	0.166 8	0.166 8	0.166 8	
8. <i>Phaconeura</i> sp. KF227255	0.236 1	0.236 1	0.236 1	0.236 1	0.236 1	0.236 1	0.231 3

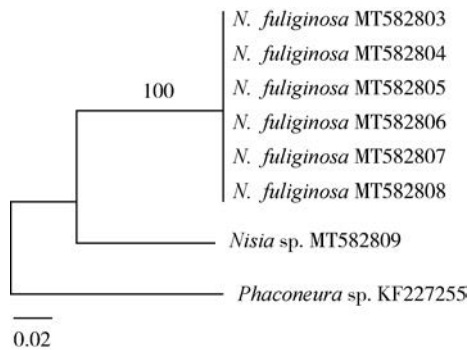


图 5 基于 *CO I* 基因的 3 种粒脉蜡蝉科昆虫的 NJ 分子系统发育树

Fig. 5 Phylogenetic tree (NJ) based on mtDNA *CO I* gene sequences of 3 meenoplid species

分支上数值为 1 000 次自展检验置信度; 标尺示遗传距离  
Number on the branch indicates bootstrap values for 1 000 replicates; scale bar represents the genetic distance

**2.3 危害状况**

黑粒脉蜡蝉在水葱所有生长发育期都能造成危害,主要是成虫及若虫群集在水葱茎秆中下部刺吸汁液(图 6:A),掠夺植株营养,使植株缺失养分,且表面留下伤痕;雌成虫(图 6:B)用产卵器刺破植物组织在其内产卵,并分泌蜡丝将卵包裹起来,外观只见蜡丝;成虫和若虫会分泌大量蜜露(图 6:C)和蜡丝(图 6:D),严重阻碍植株光合作用,影响植株

长势,致使植株黄化,甚至引起植株的死亡,并为真菌和细菌的大量繁殖提供了有利条件。

**3 讨论**

粒脉蜡蝉科昆虫除了取食多种杂草外,还危害多种经济作物。四合木 *Tetraena mongolica* 是国家 II 级重点保护植物且为单属种,粒脉蜡蝉被报道是其叶片上的重要吸食类害虫(赵伟,刘强,2010,2011);粉白粒脉蜡蝉 *N. atrovonosa* Lethierry 是杂草地生境中危害水稻 *Oryza sativa* 的优势种害虫(李志胜,2002);澳洲粒脉蜡蝉 *N. australiensis* Woodward 危害香附子 *Cyperus rotundus* 和竹节花 *Dianthus chinensis*,加罗林粒脉蜡蝉 *N. carolinensis* Fennah 危害香附子和水稻(胡春林,杨莲芳,1993)。本文报道的黑粒脉蜡蝉在其模式标本产地云南思茅地区主要在杂草上取食,而本研究调查发现黑粒脉蜡蝉在贵州威宁草海地区只在水葱上危害,成虫喜在近水面潮湿的水葱中下部危害,若虫聚集在近根部危害,一般较难被发现,当受到惊吓时,会跳离水葱植株,停留在水面些许时间。成、若虫都能分泌蜡丝和蜜露,雌成虫在茎秆上产卵后会分泌蜡丝将卵包裹在其中,以保护卵不受到外界环境影响。



图6 黑粒脉蜡蝉危害状

Fig. 6 Damage symptoms of *Nisia fuliginosa*

比较形态学研究发现,采自贵州威宁草海的黑粒脉蜡蝉,其雄性生殖器结构阳茎外侧外缘弯曲处有2~4个小刺状突起,而采自云南思茅地区的黑粒脉蜡蝉则没有该刺状突起,其余形态结构无明显区别。据统计,目前粒脉蜡蝉属全世界共记录22种,中国记录5种,其中,粉白粒脉蜡蝉分布于陕西、贵州、云南、四川、浙江、福建、湖南等多地,澳洲粒脉蜡蝉和加罗林粒脉蜡蝉目前仅台湾有记录,黑粒脉蜡蝉目前只在云南、贵州有分布记录,条纹小粒脉蜡蝉 *N. striata* Yang & Hu 目前只在云南有记录。由此判断,通过深入的调查采集,应该还有新种待发现和描述。

本研究中,黑粒脉蜡蝉的卵、若虫及成虫基于线粒体 *CO I* 基因序列的种内遗传距离为0,远小于3种粒脉蜡蝉科昆虫种间遗传距离0.2015,验证了卵、若虫与成虫三者之间的一一对应关系。基于 *CO I* 条形码序列系统发育分析,可明显看到黑粒脉蜡蝉6个样品很好地聚为一支,后与 *Nisia* sp.

相遇, *Phaconeura* sp. 位于树的根部。证实线粒体 *CO I* 基因片段可作为黑粒脉蜡蝉及其近缘类群物种的DNA条形码,能较好地实现对水葱害虫黑粒脉蜡蝉各虫态(尤其是卵和若虫)准确、快捷的分子鉴定。

#### 参考文献:

- 丁永顺,常志敏,杨琳,等. 2018. 乌桕新害虫——中华卡扁蜡蝉的形态及分子鉴定[J]. 林业科学研究, 31(6): 69-75.
- 范铮,孙培龙,马新,等. 2013. 水葱提取物的抗菌作用研究[J]. 食品科技, 38(2): 214-217.
- 顾懿宁,刘春林,缪爱珠,等. 2013. 水葱治疗良性前列腺增生的疗效[J]. 江苏医药, 39(8): 974-975.
- 胡春林,杨莲芳. 1993. 中国脉蜡蝉科初步名录附一新种(同翅目:蜡蝉总科)[J]. 昆虫分类学报, 15(1): 35-40.
- 李凤山,聂卉,叶长虹. 1997. 黑颈鹤越冬期间植食性食物的显微分析[J]. 动物学研究, 18(1): 51-57.
- 李志胜. 2002. 稻田生态系统杂草地生境节肢动物群落结

- 构及其动态研究[D]. 福州: 福建农林大学.
- 刘鹏岩, 傅承光. 1992. 河北水葱挥发油的 GC-MS 分析[J]. 分析测试通报, 11(3): 4.
- 任珺, 付朝文, 陶玲, 等. 2011. 芦苇、菖蒲和水葱对水体中  $Zn^{2+}$  的富集效应研究[J]. 湿地科学, 9(4): 322-327.
- 任珺, 陶玲, 杨倩, 等. 2010. 芦苇、菖蒲和水葱对水体中 Cd 富集能力的研究[J]. 农业环境科学学报, 29(9): 1757-1762.
- 杨莲芳, 胡春林. 1985. 粒脉蜡蝉科四新种记述(同翅目: 蜡蝉总科)[J]. 南京农业大学学报, 8(4): 21-27.
- 杨倩. 2009. 三种湿地植物对污染水体中重金属离子的积累能力研究[D]. 兰州: 兰州交通大学.
- 赵伟, 刘强. 2010. 中国特有植物四合木的昆虫群落与多样性特征[J]. 昆虫知识, 47(1): 177-182.
- 赵伟, 刘强. 2011. 四合木(*Tetraena mongolica*)林地昆虫群落的组成、结构及多样性特征[J]. 生态学杂志, 30(11): 168-175.
- Bourgoin T. 2020. FLOW (Fulgoromorpha lists on the web): a world knowledge base dedicated to Fulgoromorpha. Version 8 [DB/OL]. [2020-12-30]. <http://hemipteradatabasesorg/flow>.
- Liu H, Beckenbach AT. 1992. Evolution of the mitochondrial cytochrome oxidase II gene among 10 orders of insects[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 1(1): 41-52.
- 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.