

浙江农业学报 *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2015 27(10): 1773–1780

<http://www.zjnyxb.cn>

章旭日, 潘杰, Tukayo Meks 等. 福建茶区小贯小绿叶蝉 rDNA 序列分析及形态再描述 [J]. 浙江农业学报 2015 27(10): 1773–1780.

DOI: 10.3969/j.issn.1004-1524.2015.10.17

福建茶区小贯小绿叶蝉 rDNA 序列分析及形态再描述

章旭日, 潘杰, Tukayo Meks, 余良, 方文珍, 罗大民*

(厦门大学 生命科学学院 福建 厦门 361102)

摘要: 重新描述了小贯小绿叶蝉的形态结构, 尤其是头部色斑、翅脉、腹部内突、下生殖板及其刚毛着生位置, 并增加了足部(刺毛列)特征描述。通过 PCR 技术克隆得到该物种的 rDNA 序列, 包括部分 18S (1 843 bp) 和 28S 序列 (667 bp) 以及完整的 5.8S (155 bp)、ITS1 (3 114 bp) 和 ITS2 序列 (1 008 bp)。序列分析表明, 18S、5.8S 和 28S 与其他物种间具有 90%~95% 的序列一致性; 而 ITS1 和 ITS2 序列变异性非常大。碱基组成比率分析显示 ITS1 以及 ITS2 具有 AT 偏好性, 前者 A+T 占 66.0%, 后者占 65.1%。与亲缘种的比较分析显示 ITS1 和 ITS2 具有丰富的多态位点, 并且 ITS2 更适用于近缘种的分子鉴定。

关键词: 小贯小绿叶蝉; 形态; rDNA; ITS2

中图分类号: S 435.711

文献标志码: A

文章编号: 1004-1524(2015)10-1773-08

rDNA sequence analysis and morphological redescription of *Empoasca onukii* from the tea growing area of Fujian

ZHANG Xu-ri, PAN Jie, TUKAYO Meks, YU Liang, FANG Wen-zhen, LUO Da-min*

(School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361102, China)

Abstract: The morphological structures of *Empoasca onukii*, the cephalic splashes, vein, abdominal apodemes, sub-genital plate and the arrangement of its bristles, and the characteristics of legs were redescriptioned, especially the arrangement of spines were added. Ribosomal DNA (rDNA) including partial of 18S (1 843 bp), 28S (667 bp) and complete 5.8S (155 bp), ITS1 (3 114 bp), ITS2 (1 008 bp) were isolated by PCR technology. Sequence analysis indicated that 18S, 5.8S and 28S had high sequence identity (90%–95%) with other insects; however, ITS1 and ITS2 showed much variability. The analysis of base composition showed that ITS1 and ITS2 were more preferences for AT (contained 66.0% and 65.1% A+T, respectively). Comparison with the phylogenetic species revealed that ITS1 and ITS2 from *E. onukii* had rich polymorphic loci and ITS2 was more suitable for molecular identification of closely related species.

Key words: *Empoasca onukii*; morphology; rDNA; ITS2

小绿叶蝉为我国茶叶栽培区以及欧洲葡萄园区重大害虫, 其成、若虫可刺吸宿主植物嫩梢

芽叶汁液, 严重影响作物的品质和产量^[1-4]。在以往的研究中, 对危害我国茶区的小绿叶蝉优势

收稿日期: 2015-01-28

基金项目: 国家自然科学基金(81171595)

作者简介: 章旭日(1986—)男, 浙江温州人, 在读博士研究生, 主要从事昆虫生化与分子生物学研究。E-mail: zhangxuri931@163.com

* 通讯作者, 罗大民, E-mail: dmluo@xmu.edu.cn

种归属地位一直存在争议,但通过比较不同地理种群间(内)虫体的形态特征以及应用分子标记技术(RAPD, 16S rRNA, COI)分析其遗传分化模式认为该优势种为假眼小绿叶蝉(*Empoasca vitis*)并且没有出现种化现象^[5-9]。但最近基于形态的研究表明,之前陕西和福建地区所描述的假眼小绿叶蝉实为小贯小绿叶蝉(*Empoasca onukii*)^[10-11],因此,其他茶区的是否真为假眼小绿叶蝉值得商榷。另外,在分子层面研究中,一直未涉及核糖体DNA(rDNA)研究,rDNA簇由一系列的编码区和非编码区重复串联组成,通过对保守区设计引物可获得18S rDNA, 5.8S rDNA, 28S rDNA序列及其间的转录间隔区ITS1和ITS2序列,因ITS序列具有丰富的变异和信息位点而广泛应用于近缘种的识别和进化研究中^[12]。鉴于此,本文通过显微摄影技术对小贯小绿叶蝉进行再描述并应用PCR技术克隆其rDNA序列,以期能更准确鉴定该物种和全面描述其特征。

1 材料与方法

1.1 样本采集与形态描述

应用拍盘法于福建农林大学教学茶园采集小贯小绿叶蝉。成虫低温麻醉后,在体视镜(Zeiss Stemi DV4)下着重对其大小、形态、颜色、头部、腹部、翅膀、足部、下生殖板等进行详细观察、拍照、绘图并做文字描述。

1.2 DNA提取及PCR扩增

收集鉴定后的单只虫体于离心管,双蒸水洗净后用研磨杵捣碎组织,按TIANamp Genomic DNA Kit(TIANGEN)步骤提取DNA, -20℃保存。利用通用引物(28S-F, 28S-R)扩增28S rDNA, 简并引物ITS2-F和ITS2-R扩增ITS2序列^[13-14]。比对弹尾目(Collembola)绿等节跳虫(*Isotoma viridis*, AY596361)、半翅目(Hemiptera)褐飞虱(*Nilaparvata lugens*, JF773148)、鳞翅目(Lepidoptera)家蚕(*Bombyx mori*, HM156712)以及直翅目(Orthoptera)中华稻蝗(*Oxya chinensis*, AY037173)的18S rDNA序列设计两对引物(18S-F1, 18S-R1; 18S-F2, 18S-R2)扩增小贯小绿叶蝉18S rDNA。根据18S rDNA设计一个正向引物

(ITS1-F)结合ITS2序列左侧的5.8S rDNA设计一个反向引物(ITS1-R)扩增ITS1序列。引物序列见表1。

PCR扩增在Bio-Rad(C1000)上进行。40 μL反应体系: 20 μL 2 × Premix EX Taq(TaKaRa), 正反引物各2 μL, DNA 1.5 μL, ddH₂O 14.5 μL。扩增条件: ①95℃ 5 min; ②36个循环: 95℃ 40 s, 50℃(28S rDNA)/56℃(ITS2)/60℃(18S rDNA I, 18S rDNA II, ITS1) 30 s, 72℃ 1 min(28S rDNA I, 18S rDNA II, ITS1) 30 s, 72℃ 1 min(ITS2, 18S rDNA I, 18S rDNA II) / 2 min(ITS1); ③72℃ 5 min(28S rDNA, ITS2) / 10 min(18S rDNA I, 18S rDNA II, ITS1); ④4℃保存。所有PCR产物经1.0%琼脂糖凝胶电泳检测, Gel Extraction Kit(Omega)胶回收后克隆至pMD19-T(TaKaRa)载体, 转化入*Escherichia Coli* DH5α感受态中涂布于LB(Amp⁺)平板过夜, 挑取单克隆于液体LB(Amp⁺)培养基中扩大培养, 提取质粒双酶切鉴定后送至华大基因测序。

表1 小贯小绿叶蝉rDNA克隆引物序列

Table 1 Primers for *Empoasca onukii* rDNA cloning

引物名称	碱基序列(5'-3')
28S-F	AGTCGTGTTGCTTGATAGTGCAG
28S-R	TTCAATTCATTTCCGCCTT
ITS2-F	TGAACATCGACATTTTYGAACGCCAT
ITS2-R	TTCTTTTCTCCSCTTAYTRATATGCTTAA
18S-F1	TGTCTCAAAGATTAAGCCATGCAT
18S-R1	TCAAATTAAGCCGAGGCTCC
18S-F2	CGCGGTAATTCAGCTCCAA
18S-R2	ATCGGTAGTAGCGACGGGCGC
ITS1-F	TAACAGGTCTGTGATGCCCTTAG
ITS1-R	CCTCAGACAGCGGTAGCCCTTG

1.3 序列分析

测序结果经MEGA 6.0比对峰图检测正反向序列是否有误,并应用DNAMAN软件对不同序列片段进行拼接。利用NCBI Blast分析序列同源性, Clustal W对同源序列进行多重比对^[15]。采用MEGA 6.0软件中Neighbor-Joining法构建系统发育树, bootstrap值设置为1 000次置信度检验^[16], 应用Kimura 2-parameter模型计算物种间的遗传距离。

2 结果与分析

2.1 形态特征

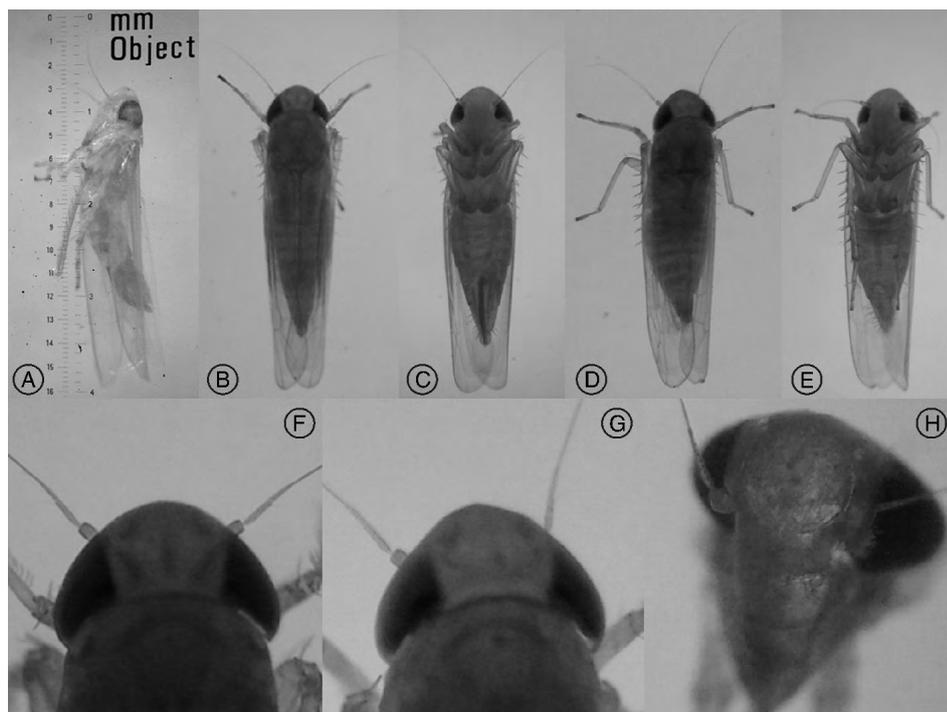
小贯小绿叶蝉体连翅长 3.0~3.4 mm, 雌性略大于雄性。成体通体绿色或黄绿色, 雌性一般较雄性色重, 雄性胸部以下多呈黄绿色(图 1-A-E)。复眼灰白、灰黑至黑色。雌、雄头冠前域左右两侧各具一绿色暗斑, 雌性头冠中后域倒“小”字绿色暗斑明显、雄性不明显(图 1-F,G), 死后暗斑逐渐消失; 头冠前缘具一对白色单眼(图 1-H)。此外, 有少部分成虫头部不具任何色斑。前翅革质、半透明, 翅基部及中部绿色或黄绿色、近端部淡黄色或烟褐色(图 2-A); 端室 4 个, 第 2 (RP)、3 端脉(MP') 大多起自一点形成三角形的第 3 端室, 少数个体有一短的共柄或基部分离(图 2-C,E-G)。后翅膜质、淡黄绿色、几近透明, CuA 脉不分叉, 轭区明显(图 2-B,D)。足部腿节、胫节和跗节关节处绿色明显, 各中部淡黄绿色; 各胫节具刺毛, 后足尤其(图 2-H-J)。后足腿节近侧毛和远侧毛各 1 根; 胫节第 1、2 棱脊刺毛粗长, 共 12 对(图 2-J)。解剖发现雌、雄成虫腹部内突缺如; 雌虫腹端部具一明显产卵瓣(图 1-C)以区分雄性, 雄性下生殖板基部呈三角

形、端部渐细上翘, 外侧密生细长刚毛(图 2-K,L)。抱握器藏于尾节与下生殖板之间(图 2-L)。交配时雌、雄腹部对接成“一”字形。

2.2 rDNA 的结构

采用通用引物(28S-F, 28S-R; ITS2-F, ITS2-R)克隆得到小贯小绿叶蝉 28S rDNA 序列 667 bp(图 3, 泳道 1) 以及 1 148 bp 的 ITS2 序列(图 3, 泳道 2) (包括部分 5.8S 以及 28S rDNA 序列)。引物 18S-F1, 18S-R1 以及 18S-F2, 18S-R2 分别获得 18S rDNA 片段 1 252 bp 和 1 177 bp(图 3, 泳道 3 和 4)。引物 ITS1-F, ITS1-R 克隆得到 3 610 bp ITS1 序列(包括部分 5.8S rDNA 以及 18S rDNA 序列)(图 3, 泳道 5)。

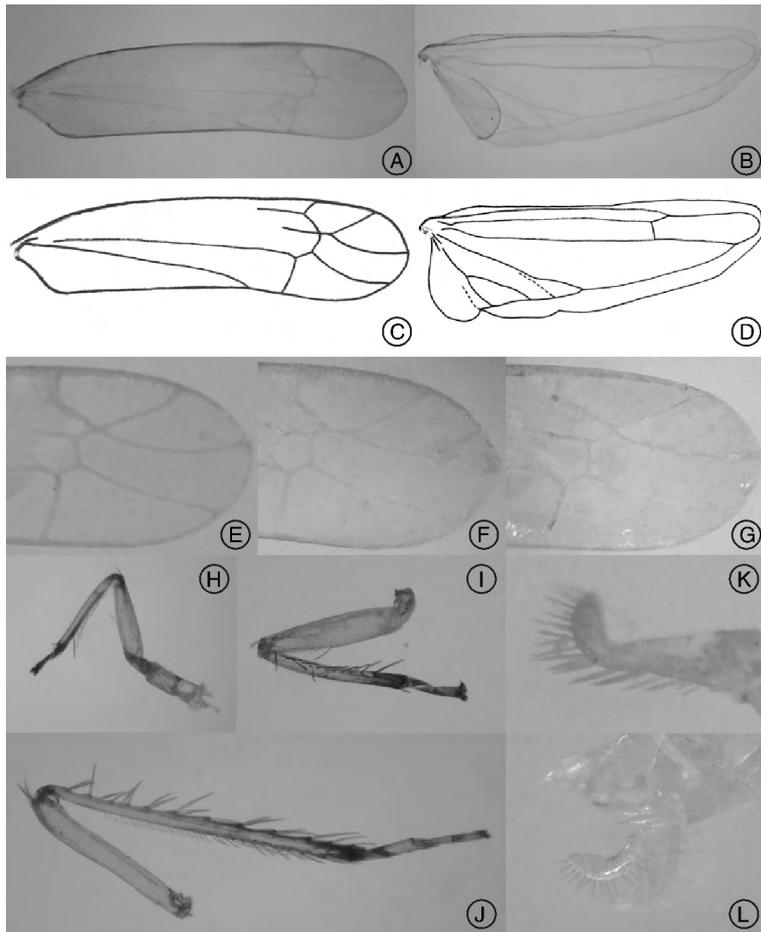
通过序列检测、拼接和同源性分析显示本次克隆得到的 18S rDNA 片段共 1 843 bp, 与叶蝉科(Cicadellidae) 以及角蝉科(Membracidae) 昆虫的一致性高达 95%; 28S rDNA 大片段共 667 bp, 与叶蝉科其他物种的一致性达 90%; 同时确定了 ITS1 和 ITS2 的两侧边界。通过多序列比对分析确定 5.8S rDNA 完整序列共 155 bp(图 4), 与猎蝽科(Reduviidae) 昆虫的同源性约为 90%, 并确



A: 虫体侧面观; B,C: 雌虫背面和腹面观; D,E: 雄虫背面和腹面观。F,G: 雌、雄虫头部特征; H: 虫体头部前缘(示单眼)。

图 1 小贯小绿叶蝉整体观及其头部特征

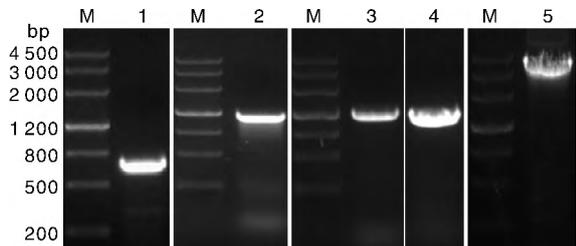
Fig.1 Whole body of *Empoasca onukii* and its head characteristics



A, C: 前翅; B, D: 后翅。E, F, G: 不同类型的翅脉。H, I, J: 前足、中足、后足。K: 下生殖板; L: 藏于尾节与下生殖板间的抱握器。

图2 小贯小绿叶蝉局部特征

Fig. 2 Local characteristics of *Empoasca onukii*



M: DNA marker; 泳道 1: 28S rDNA PCR 产物; 泳道 2: ITS2 PCR 产物; 泳道 3: 18S rDNA 片段 I; 泳道 4: 18S rDNA 片段 II; 泳道 5: ITS1 PCR 产物。

图3 小贯小绿叶蝉 rDNA 的 PCR 扩增

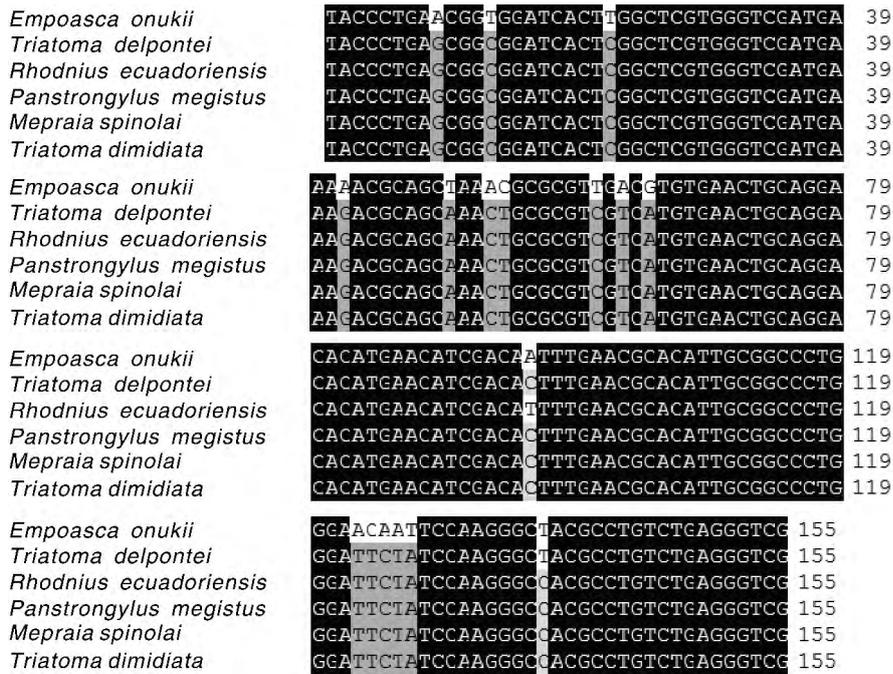
Fig. 3 PCR amplification of *Empoasca onukii* rDNA

定了转录间隔区的中间边界。通过边界序列推断完整的 ITS1 和 ITS2 序列分别为 3 114 bp 和 1 008 bp。通过碱基比率分析表明这两个转录间隔区具有 AT 偏好性,前者 A + T 含量占 66.0%,后者占 65.1%。将 18S rDNA, ITS1 (包括 5.8S

rDNA), ITS2, 28S rDNA 序列上传至 GenBank 得到登录号: KM215144, KM215145, KF912947, KF723427。通过序列分析构建的小贯小绿叶蝉 rDNA 模式草图见图 5。

2.3 rDNA 的遗传进化模式

基于 18S rDNA 的进化分析表明,小贯小绿叶蝉与 *Paracephaleus brunneus*, *Flexamia areolata* 和 *Putoniessa rivularis* 聚为一支形成叶蝉科,其他物种聚为一大支形成角蝉科,这两大支底下可见小分支(图 6-A)。MEGA 6.0 计算显示所选的 16 个物种间的遗传距离为 0 ~ 0.05 (表 2)。基于 28S rDNA 的进化分析表明,小贯小绿叶蝉与 *Empoasca fabae* 聚为一小支, *Thamposia rotata*, *Eurhadina fasciata* 和 *Eurhadina rutilans* 三者聚为一支,而后这两支聚为一大支归属小叶蝉亚科(Typhlocybinae);其他物种聚为两支,分别归属大叶



登录号: *Empoasca onukii* (KM215145), *Triatoma delpontei* (KF142514), *Rhodnius ecuadoriensis* (KF142523), *Panstrongylus megistus* (KF142519), *Mepraia spinolai* (KF142518), *Triatoma dimidiata* (KF142517)。

图 4 小贯小绿叶蝉 5.8S rDNA 与其亲缘种的序列比对

Fig. 4 5.8S rDNA sequence alignment among *Empoasca onukii* and its phylogenetic species

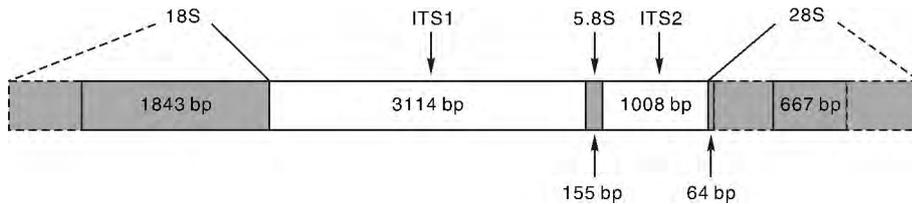


图 5 小贯小绿叶蝉 rDNA 模式草图

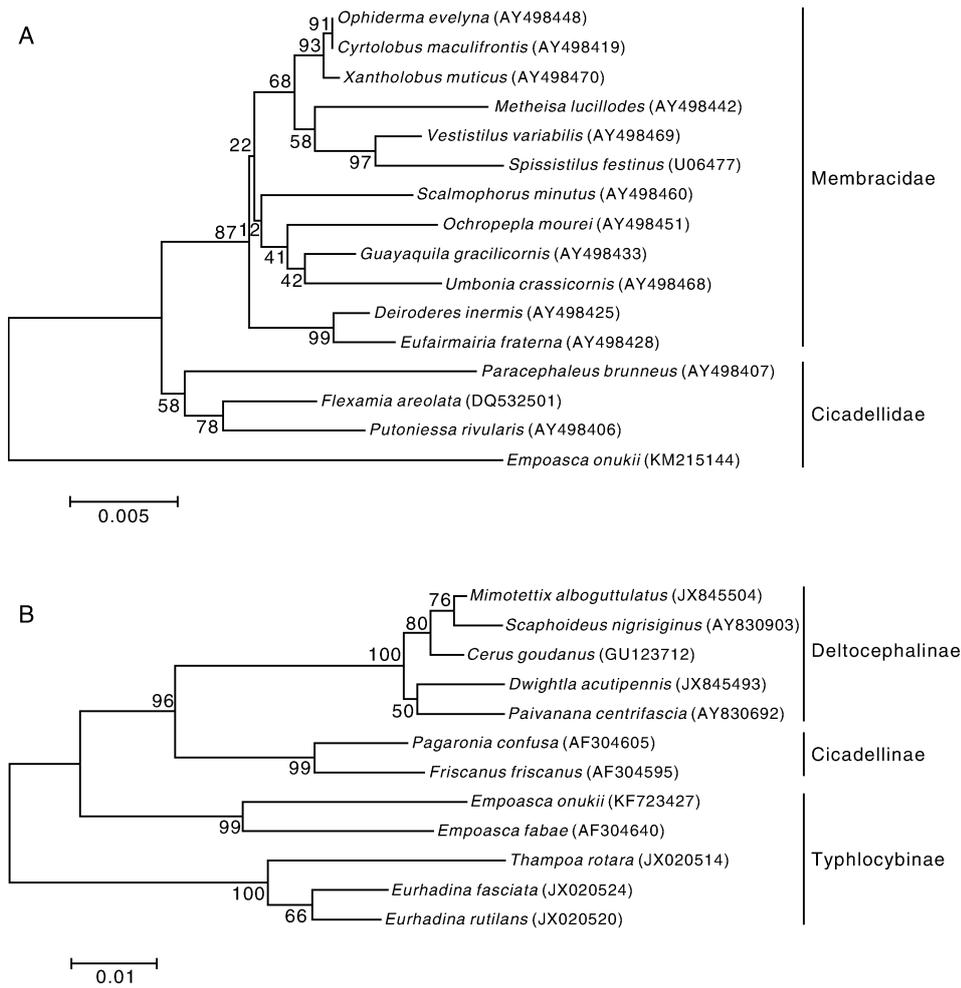
Fig. 5 Model sketch of *Empoasca onukii* rDNA

蝉亚科 (Cicadellinae) 以及角顶叶蝉亚科 (Deltocephalinae) (图 6-B)。此外,所选的 12 个物种间的遗传距离为 0.01 ~ 0.10 (表 3)。因 GenBank 中缺乏叶蝉科及亲缘种的 ITS1 序列,故无法对小贯小绿叶蝉的 ITS1 进行分析。通过与叶蝉科 *Xyphon sagittifera* (FJ221369)、*Cofana spectra* (GQ891090) 以及网蝽科 (Tingidae) *Pseudacysta perseae* (KM278220) ITS2 序列同源性分析发现小贯小绿叶蝉归属的叶蝉科 ITS2 序列的 5' 端具有一个 34 bp 左右的保守域 “GCTTTACWWGAACTYMGTTCAACC-ARTMTTGCG” 其他区域则无法比对。

3 讨论

基于物种的遗传变化性及表型可塑性,在分类学上一般选择种间差异明显而且稳定的结构作为物种鉴别的依据^[17]。通过对小贯小绿叶蝉观察发现其某些结构与之前假眼小绿叶蝉的描述有所差异,如腹部内突与赵冬香等人以及《福建昆虫志(第二卷)》的描述并不一致^[5,18],有关头部色斑以及下生殖板刚毛着生位置的描述也不一样。再者,通过解剖发现其头部前缘的单眼为真实结构,这一点与假眼小绿叶蝉的“假单眼”有本质区别。由于叶蝉科昆虫足部刺毛的排列方式为物种分类的另一重要特征^[19],因此本研究增加了对足部形态的描述以作为物种鉴定的补充依据。

对小贯小绿叶蝉 rDNA 的分析中发现 18S rDNA



A: 基于 18S rDNA 的 NJ 树; B: 基于 28S rDNA 的 NJ 树。

图 6 基于 rDNA 部分序列的小贯小绿叶蝉及其亲缘种的系统发育树

Fig. 6 Phylogenetic tree based on partial rDNA of *Empoasca onukii* and its phylogenetic species

表 2 小贯小绿叶蝉及其亲缘种 18S rDNA 两两间遗传距离

Table 2 Genetic pairwise distance of 18S rDNA from Cicadellidae and Membracidae

物种	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1. <i>Empoasca onukii</i>																
2. <i>Paracephaleus brunneus</i>	0.05															
3. <i>Flexamia areolata</i>	0.04	0.02														
4. <i>Putoniessa rivularis</i>	0.04	0.02	0.01													
5. <i>Deiroderes inermis</i>	0.04	0.03	0.02	0.02												
6. <i>Eufairmairia fraterna</i>	0.04	0.03	0.02	0.02	0.00											
7. <i>Scalmophorus minutus</i>	0.04	0.03	0.02	0.02	0.01	0.01										
8. <i>Ophiderma evelyna</i>	0.04	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01									
9. <i>Guayaquila gracilicornis</i>	0.04	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01								
10. <i>Xantholobus muticus</i>	0.04	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01						
11. <i>Cyrtolobus maculifrons</i>	0.04	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.00	0.01	0.00						
12. <i>Vestistilus variabilis</i>	0.04	0.02	0.02	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01					
13. <i>Metheisa lucillodes</i>	0.04	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01				
14. <i>Ochropepla mourei</i>	0.04	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02		
15. <i>Spissistilus festinus</i>	0.05	0.03	0.02	0.03	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	
16. <i>Umbonia crassicornis</i>	0.04	0.03	0.02	0.02	0.02	0.02	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.02	0.02	0.01	0.02

表3 小贯小绿叶蝉及其亲缘种 28S rDNA 两两间遗传距离

Table 3 Genetic pairwise distance of 28S rDNA from Cicadellidae

物种	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. <i>Empoasca onukii</i>												
2. <i>Empoasca fabae</i>	0.05											
3. <i>Thamposia rotata</i>	0.11	0.11										
4. <i>Eurhadina fasciata</i>	0.10	0.10	0.04									
5. <i>Eurhadina rutilans</i>	0.10	0.10	0.03	0.01								
6. <i>Pagaronia confusa</i>	0.08	0.07	0.11	0.09	0.09							
7. <i>Friscanus friscanus</i>	0.09	0.08	0.10	0.08	0.08	0.02						
8. <i>Mimotettix alboguttulatus</i>	0.09	0.09	0.11	0.10	0.09	0.06	0.06					
9. <i>Scaphoideus nigrisiginus</i>	0.10	0.09	0.11	0.10	0.09	0.07	0.07	0.01				
10. <i>Cerus goudanus</i>	0.08	0.08	0.11	0.10	0.09	0.06	0.06	0.01	0.02			
11. <i>Dwightia acutipennis</i>	0.10	0.09	0.12	0.10	0.10	0.07	0.07	0.02	0.03	0.02		
12. <i>Paivanana centrifascia</i>	0.10	0.09	0.12	0.10	0.10	0.06	0.06	0.02	0.02	0.02	0.02	

的进化速率很慢,在同一目昆虫间异常保守,在科及以下分类单元间的遗传距离非常小、甚至不能区分,如 *Ophiderma evelyna*, *Cyrtolobus maculifrontis* 和 *Xantholobus muticus*, 虽然三者为不同属,但其遗传距离为 0。相比之下,28S rDNA 的进化速率稍快,在不同亚科之间可聚成相应的支系,但它们之间的遗传距离仍非常小,如 *Cerus goudanus*, *Pagaronia confusa* 和小贯小绿叶蝉两两之间的遗传距离为 0.06 ~ 0.08。所以,采用 18S 或 28S rDNA 作为分子标记可很好的构建高级阶元的系统进化关系,但不适用于作为属种鉴定的依据。此外,在同源分析中发现 5.8S rDNA 序列及其长度在半翅目昆虫中十分保守,因此可根据该特点判定 ITS 间隔区的中间边界。至于 ITS1, 因数据库中缺乏叶蝉类的相关序列而无法对其进行分析,但与已知的飞虱科(Delphacidae)昆虫(439 ~ 603 bp)相比^[20],小贯小绿叶蝉 ITS1 的长度是它们的 5 倍,而且飞虱科内部的 ITS1 具有丰富的变异位点,推测该区域在叶蝉科昆虫间具有高多态性以及长度变异性。与 ITS1 不同,小贯小绿叶蝉的 ITS2 相对较短(1 008 bp),结合大叶蝉亚科 *X. sagittifera*(559 bp) 和 *C. spectra*(381 bp) ITS2 的信息以及飞虱科 ITS2 的特点^[20],推测叶蝉科昆虫的 ITS2 具有丰富的多态位点。

从以上分析可知,ITS1 和 ITS2 可作为鉴定小绿叶蝉种的分子依据,但因考虑到 ITS1 序列较长(3 114 bp),在克隆和测序时花费的时间和精力较大,相比之下 ITS2 更适用于近缘种的鉴定。

根据本研究克隆策略,通过比对半翅目 5.8S rDNA 以及 28S rDNA 设计引物即可有效扩增叶蝉科昆虫的 ITS2 序列,但因目前数据库中叶蝉类的 ITS2 序列信息较少、难以比对,因此建议加快这些种类的信息采集。虽本研究描述的结构与假眼小绿叶蝉有所差异,但分子证据支持全国各大茶区的小绿叶蝉为假眼小绿叶蝉单一优势种,在这些分子证据中,不同基因具有不同的进化速率,所以其构建的进化树以及计算出的遗传距离并不一定反映出真实的亲缘关系(尤其是近缘种),本文提供的 ITS 序列有较其他分子标记更快的进化速率,可为近缘种和隐存种的鉴别提供良好的分子依据。因此,开展全国各大茶区小绿叶蝉形态和亲缘关系的再研究显得十分必要。

参考文献:

- [1] 陈宗懋. 茶树害虫化学生态学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2013: 96.
- [2] Böll S, Herrmann JV. A long-term study on the population dynamics of the grape leafhopper (*Empoasca vitis*) and antagonistic mymarid species[J]. *Journal of Pest Science*, 2004, 77(1): 33-42.
- [3] Decante D, Helden MV. Spatial and temporal distribution of *Empoasca vitis* within a vineyard[J]. *Agricultural and Forest Entomology*, 2008, 10(2): 111-118.
- [4] Pavan F, Patrizia P. Influence of grapevine cultivars on the leafhopper *Empoasca vitis* and its egg parasitoids[J]. *BioControl*, 2009, 54(1): 55-63.
- [5] 赵冬香, 陈宗懋, 程家安. 茶小绿叶蝉优势种的归属[J]. *茶业科学*, 2000, 20(2): 101-104.

- [6] 付建玉,韩宝瑜. 茶小绿叶蝉优势种的归属的分子依据[J]. 科技通报,2005,21(5): 549-552,556.
- [7] 付建玉,韩宝瑜. 七省茶园假眼小绿叶蝉的 RAPD 分析及其亲缘关系探讨[J]. 浙江农业学报,2007,19(1): 11-14.
- [8] 李乐,付建玉,肖强. 假眼小绿叶蝉地理种群的线粒体 DNA 16S rRNA 基因序列分析及遗传分化研究[J]. 应用昆虫学报,2013,50(3): 675-685.
- [9] 周宁宁,王梦馨,崔林,等. 基于 *CO I* 基因全长序列的假眼小绿叶蝉地理种群遗传分化研究[J]. 生态学报,2014,34(23): 6879-6889.
- [10] 秦道正,肖强,王玉春,等. 危害陕西茶区茶树的小绿叶蝉种类订正及对我国茶树小绿叶蝉的再认识[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版,2014,42(5): 124-134,140.
- [11] 施龙清,林美珍,陈李林,等. 福建主要茶区茶小绿叶蝉种名的存疑与鉴别[J]. 福建农林大学学报: 自然科学版,2014,43(5): 456-459.
- [12] 黄华平,杨腊英,王国芬,等. rDNA 和 mtDNA 在昆虫系统发育与区系研究中的应用[J]. 华南热带农业大学学报,2006,12(4): 45-49.
- [13] Dietrich CH, Rakitov RA, Holmes JL, et al. Phylogeny of the major lineages of Membracoidea (Insecta: Hemiptera: Cicadomorpha) based on 28S rDNA sequences [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2001, 18(2): 293-305.
- [14] Ji YJ, Zhang DX, He LJ. Evolutionary conservation and versatility of a new set of primers for amplifying the ribosomal internal transcribed spacer regions in insects and other invertebrates [J]. *Molecular Ecology Notes*, 2003, 3(4): 581-585.
- [15] Larkin MA, Blackshields G, Brown NP, et al. Clustal W and Clustal X version 2.0 [J]. *Bioinformatics*, 2007, 23(21): 2947-2948.
- [16] Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, 30(12): 2725-2729.
- [17] 郑乐怡. 动物分类原理与方法[M]. 北京: 高等教育出版社, 1987: 66.
- [18] 黄邦侃. 福建昆虫志: 第二卷[M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1999: 366-367.
- [19] 袁锋,张雅林,冯纪年,等. 昆虫分类学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 295.
- [20] 刘玉娣,林克剑,韩兰芝,等. 基于 rDNA ITS1 和 ITS2 序列的褐飞虱、白背飞虱和灰飞虱的分子鉴定[J]. 昆虫学报, 2009, 52(11): 1266-1272.

(责任编辑 张 韵)