International Journal of Ecology 世界生态学, 2023, 12(3), 247-252
Published Online August 2023 in Hans. https://www.hanspub.org/journal/ije
https://doi.org/10.12677/ije.2023.123030

Hans汉斯

李比利氏灰粉蚧的分子鉴定方法及截获分析

刘若思[1*]，陶可欣[2]，马福欢[3]，张丽杰[1#]，种　焱[1]，杨倩倩[2]

[1]中国海关科学技术研究中心，北京
[2]中国计量大学生命科学学院，浙江 杭州
[3]凭祥海关，广西 凭祥

收稿日期：2023年6月23日；录用日期：2023年7月24日；发布日期：2023年7月31日

摘　要

本文对来自于印度尼西亚截获的山竹果上的粉蚧进行了分子和形态学鉴定，其结果确定为李比利氏灰粉蚧*Dysmicoccus lepelleyi* (Betrem)。介绍了其分子生物学鉴定方法，通过分子比对可准确鉴定其种类，并通过构建系统发育树确定了其与几个近缘种的关系，拍摄了本次截获粉蚧的生态照及玻片标本照。对海关检疫系统截获的李比利氏灰粉蚧进行了查询，分析了该虫的截获规律。

关键词

李比利氏灰粉蚧，分子鉴定，截获分析

Molecular Identification and Interception Analysis of *Dysmicoccus lepelleyi* (Betrem)

Ruosi Liu[1*], Kexin Tao[2], Fuhuan Ma[3], Lijie Zhang[1#], Yan Chong[1], Qianqian Yang[2]

[1]Science and Technology Research Center of China Customs, Beijing
[2]College of Life and Sciences, China Jiliang University, Hangzhou Zhejiang
[3]Pingxiang Customs, Pingxiang Guangxi

Received: Jun. 23rd, 2023; accepted: Jul. 24th, 2023; published: Jul. 31st, 2023

Abstract

Both morphological characteristics and DNA barcoding were used to compare and identify the mealybug in mangostens intercepted from Indonesia in this study. The mealybug is identified as

*第一作者。
#通信作者。

文章引用: 刘若思, 陶可欣, 马福欢, 张丽杰, 种焱, 杨倩倩. 李比利氏灰粉蚧的分子鉴定方法及截获分析[J]. 世界生态学, 2023, 12(3): 247-252. DOI: 10.12677/ije.2023.123030

Dysmicoccus lepelleyi. **The species can be accurately identified by molecular comparison, and the relationship between the species and several related species can be determined by constructing phylogenetic tree. Habitus photos and slide specimen photos of the mealybug were taken. The pattern of *Dysmicoccus lepelleyi* intercepted by customs quarantine system was analyzed.**

Keywords

***Dysmicoccus lepelleyi*, Molecular Identification, Interception Analysis**

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.
This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).
http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Open Access

1. 引言

李比利氏灰粉蚧 *Dysmicoccus lepelleyi* (Betrem)是海关检疫经常截获的一种有害生物，英文名 Le Pelley Mealybug。此有害生物寄主广，已知有 15 个科 30 余种，包括山竹、红毛丹、椰子、香蕉等热带水果，主要分布于印度尼西亚、柬埔寨、马来西亚、菲律宾、新加坡、泰国、越南等与我国有水果贸易往来的东南亚国家，但该虫在我国尚无分布。

本文通过对来自印度尼西亚进行分子生物学和形态学鉴定，并对我国截获的李比利氏灰粉蚧进行分析，确定了口岸鉴定该虫的分子生物学鉴定方法较适合常规鉴定，并就该虫的截获特点进行了分析，明确了货检、山竹寄主、来源国为泰国是截获该虫的重要途径。

2. 分子鉴定

2.1. 供试虫源

印度尼西亚山竹上的粉蚧雌成虫 2 头。

2.2. 提取 DNA 及扩增方法

取 2 头雌成虫(样品编号为 2-F-ZLJ_B05 和 3-F-ZLJ_C05)用于 DNA 提取，提取方法参考廖力等[1]的研究。扩增 CO I片段引物序列分别为 PcoF1 和 LepR1，PCR 扩增条件参考 Park 等[2]的研究。PCR 反应中的引物来自安升达生物科技有限公司，试剂来自天根生化科技(北京)有限公司，扩增产物经电泳检测有目标扩增片段后送安升达生物科技有限公司进行正反向测序。测序结果采用 MEGA 7 软件进行校对和拼接[3]，除去两端引物序列，获得长度分别为 658 bp 和 659 bp 的 DNA 条形码序列。

2.3. 分子序列的比对

将收到的 2 条序列 2-F-ZLJ_B05 和 3-F-ZLJ_C05 分别在 NCB I 中进行 BLAST 比对，2-F-ZLJ_B05 与 *Dysmicoccus lepelleyi* 的 CO I基因序列 KY372997 相似度为 99.68%；3-F-ZLJ_C05 与 *Dysmicoccus lepelleyi* 的 CO I基因序列 KX015111 相似度为 99.84%。结果显示 2-F-ZLJ_B05 和 3-F-ZLJ_C05 都是李比利氏灰粉蚧 *Dysmicoccus lepelleyi* 的 CO I基因序列。

2.4. 系统发育树的构建

从 GenBank 下载 6 条已公布的灰粉蚧属 *Dysmicoccus* 线粒体 CO I基因序列和大洋臀纹粉蚧

Planococcus minor CO I基因序列，结合已有 2 条 CO I基因序列(2-F-ZLJ_B05 和 3-F-ZLJ_C05)，利用 MEGA X 软件比对并剪切得到 615 bp 核心序列集(表 1)。

Table 1. CO I gene sequence information for phylogenetic tree
表 1. 用于构建系统发育树的物种 CO I基因序列信息

属	物种名	序列长度(bp)	登录号
Dysmicoccus	*Dysmicoccus alazon*	669	KP692708
	Dysmicoccus boninsis	615	OP450830
	Dysmicoccus brevipes	649	MN901454
	Dysmicoccus lavandulae	1045	KR340585
	Dysmicoccus lepelleyi	649	KY372997
	Dysmicoccus neobrevipes	649	MT044475
	Dysmicoccus lepelleyi	658	本实验(2-F-ZLJ_B05)
	Dysmicoccus lepelleyi	659	本实验(3-F-ZLJ_C05)
Planococcus	*Planococcus minor*	664	MT707321

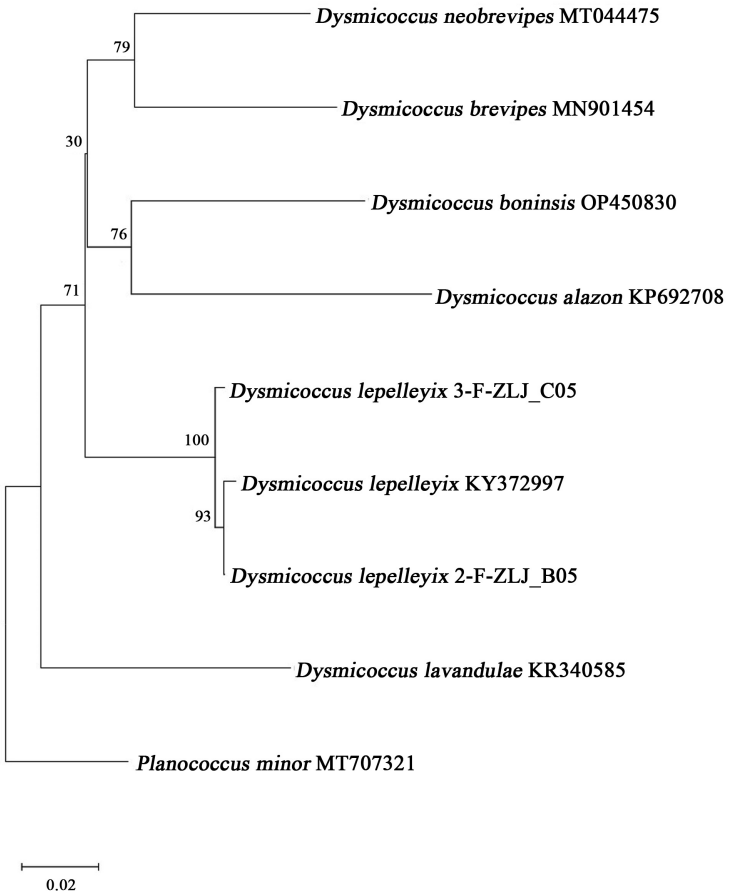

Figure 1. Phylogenetic tree based on neighbor-joining method (NJ)
图 1. 基于邻接法(NJ)构建的系统发育树

基于 9 条 Dysmicoccus 属 CO I基因序列，以 Planococcus minor CO I基因序列为外群。采用最大似然法(Maximum likelihood method, ML)以及邻接法(Neighbor-Joining, NJ)构建系统发育树。ML 树使用

IQ-TREE web server (http://iqtree.cibiv.univie.ac.at/)的默认参数进行运算。NJ 树利用 MEGA X 软件进行运算，进化距离的计算采用 Kimura 2 参数模型(Kimura 2-parameter model)，Bootstrap 值为 1000。ML 树和 NJ 树相对位置基本一致，*Dysmicoccus lepelleyi* 分为 2 支，其中 *Dysmicoccus lepelleyi*_2-F-ZLJ_B05 与 *Dysmicoccus lepelleyi*_KY372997 聚为 1 支(图 1~2)。

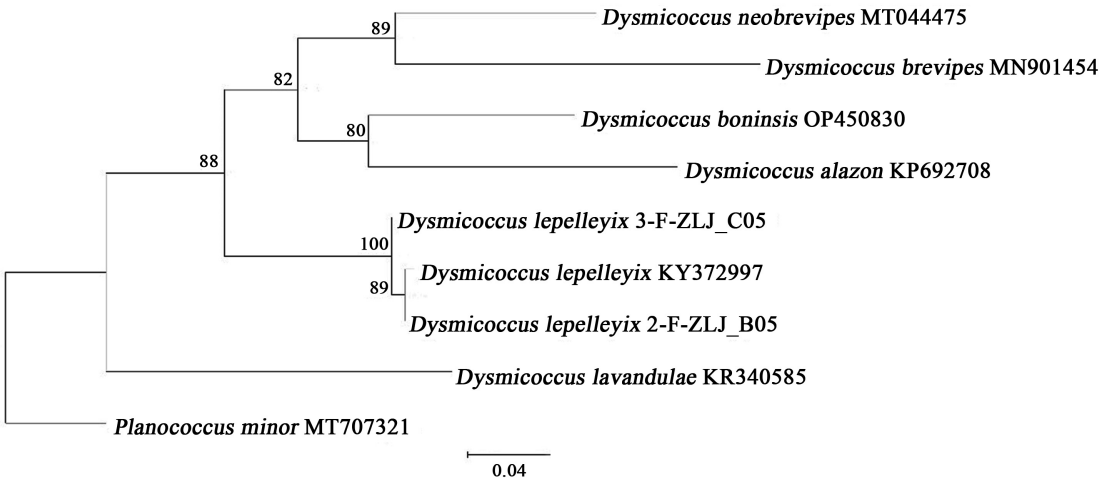

Figure 2. Phylogenetic tree based on maximum likelihood method (ML)
图 2. 基于最大自然法(ML)构建的系统发育树

3. 形态特征

挑出山竹上的粉蚧雌成虫(图 3)，制作成玻片标本(图 4)，体背侧缘有一列大的领状管是该种鉴定的关键特征(图 5)，具体鉴定步骤可参照 SN/T 4995-2017《李比利氏灰粉蚧检疫鉴定方法》[4]、焦懿等[5]和 Williams [6]的研究。

Figure 3. Habitus of *Dysmicoccus lepelleyi* in mangosteen
图 3. 李比利氏灰粉蚧在山竹上的生态照

Figure 4. Slide of *Dysmicoccus lepelleyi* in this study (ventral view)
图 4. 本研究截获的李比利氏灰粉蚧玻片图(腹面)

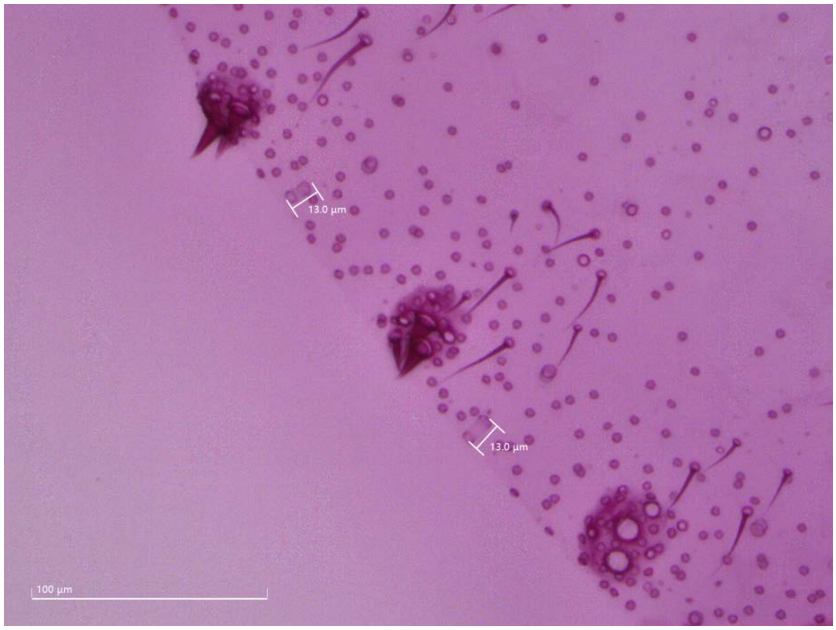

Figure 5. Tubular duct as an important identification characteristic of *Dysmicoccus lepelleyi*
图 5. 李比利氏灰粉蚧的重要鉴定特征管状腺

4. 截获情况

截至 2023 年 3 月底，我国口岸共截获过 4155 批次的李比利氏灰粉蚧，其中，2870 批次为货物检出截获，占比 69.1%，我国的李比利氏灰粉蚧由贸易水果检出的比重较大；旅客携带物中检出 1279 批次，

占比 30.8%；其余还有少量通过运输工具、包装铺垫物等检出。货检是截获该虫的重点，旅检次之，因此应加强对货物和旅客携带物两方面的查验，提高该虫的检出率。

从截获的来源地区来看，包括泰国、印度尼西亚、马来西亚等 20 个国家或地区，多为与我国有贸易往来的东南亚国家，也包括机场吞吐量较大的国际中转站(如美国、中国香港等)。其中，截获较多的包括泰国 2064 批次，马来西亚 585 批次，印度尼西亚 378 批次，越南 240 批次，中国澳门 176 批次。泰国是截获该虫的重要来源国，其他东南亚国家也较易截获。因此，应加强对东南亚主要贸易水果国的货检查验，以提高对该虫的检出率，同时针对一些航班中转站的旅客携带物也应重点防范。

从截获的寄主水果来看，李比利氏灰粉蚧的寄主包括山竹、番荔枝、红毛丹、蛇皮果、火龙果、榴莲、菠萝蜜等 10 余种水果，其中多为热带水果。截获物中山竹 3891 批次，占比 93.6%，为截获最多的寄主水果，所以山竹为截获该虫的重点。

5. 讨论

由于李比利氏灰粉蚧的玻片标本制作难度较高，一般没有粉蚧制作鉴定经验的人员鉴定起来难度较大；且不同寄主、不同来源地区的标本在形态特征上略有差异，如不同标本的背毛长度、腹部管腺的多少、后足是否有透明孔会有差异，从而进一步增加了鉴定难度。本文推荐了一种分子生物学鉴定方法，可以降低鉴定门槛，没有粉蚧鉴定经验或没有昆虫分类知识背景的人员也可以进行鉴定。但鉴定粉蚧类昆虫，制作玻片标本为基本技能；分子鉴定可作为辅助手段在快速鉴定及残缺样品、对非成虫虫态鉴定时进行判断。一旦检出此虫，进出口果蔬、苗木等相关处理方法可参照 SN/T 5543-2022《李比利氏灰粉蚧检疫辐照处理最低吸收剂量》[7]。本文对海关检疫系统截获的李比利氏灰粉蚧进行了汇总分析，通过掌握该虫的截获规律，做好相应的重点工作，严防该虫入侵我国，保护我国的农业生态健康。

基金项目

国家重点研发计划(2021YFF0703804)；海关总署科技项目(2018IK002)。

参考文献

[1] 廖力, 徐淼锋, 张卫东, 等. 应用 DNA 条形码技术鉴别谷实夜蛾与棉铃虫[J]. 植物检疫, 2012, 26(6): 12-16.

[2] Park, D.S., Suh, S.J., Hebert, P.D.N., *et al*. (2011) DNA Barcodes for Two Scale Insect Families, Mealybugs (*Hemiptera*: *Pseudococcidae*) and Armored Scales (*Hemiptera*: *Diaspididae*). *Bulletin of Entomological Research*, **101**, 429-434. https://doi.org/10.1017/S0007485310000714

[3] Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K. (2016) MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, **33**, 1870-1874. https://doi.org/10.1093/molbev/msw054

[4] 李惠萍, 杜智欣, 董文勇, 等. SN/T 4995-2017 李比利氏灰粉蚧检疫鉴定方法[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.

[5] 焦懿, 余道坚, 陈志粦, 等. 从进口泰国、印度尼西亚和马来西亚山竹上截获重要害虫李比利氏灰粉蚧[J]. 植物检疫, 2011, 25(2): 59-61.

[6] Williams, D.J. (2004) The Mealybugs of Southern Asia. Southdene, Kuala Lumpur, 195-200.

[7] 詹国平, 钟勇, 马晨, 等. SN/T 5543-2022 李比利氏灰粉蚧检疫辐照处理最低吸收剂量[S]. 北京: 中国海关出版社, 2022.