

# 大豆蚜细胞色素氧化酶 II 基因的克隆及其在捕食性天敌昆虫鉴定中的应用

高红秀, 韩岚岚, 赵奎军\* 樊东, 刘健

(东北农业大学农学院 哈尔滨 150030)

**摘要:** 利用通用引物, 对大豆蚜 *Aphis glycines* Matsumura 的细胞色素氧化酶 II (CO II) 基因序列进行克隆和测序。测得的序列长度为 810 bp, 并与已在 GenBank 上登录的其他蚜虫 CO II 基因序列进行比较分析, 验证其同源性, 同时将该序列在 GenBank 进行了登记 (登录号为 DQ265743)。根据此片段的碱基序列设计了 1 对大豆蚜特异引物, 其扩增片段约为 270 bp; 种特异性检验结果表明, 该引物只对大豆蚜具有扩增能力, 对其他相关蚜虫种类不具有扩增效果; 并用此引物对大豆蚜捕食性天敌进行定性检测, 结果表明, 在取食过大豆蚜的异色瓢虫 *Harmonia axyridis*、龟纹瓢虫 *Propylaea japonica*、大草蛉 *Chrysopa septempunctata* 幼虫以及小花蝽 *Orius similis* 成虫和幼虫等捕食性昆虫的中肠中均能检测到大豆蚜的 DNA 片段; 而在未取食蚜虫的上述天敌中却未能扩增出来。

**关键词:** 大豆蚜; 细胞色素氧化酶 II 基因; 克隆; 天敌; 捕食性昆虫; 分子鉴定

中图分类号: Q966 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2006)05-0754-05

## Cloning and sequencing of cytochrome oxidase II gene of *Aphis glycines* and its application in detecting natural enemies

GAO Hong-Xiu, HAN Lan-Lan, ZHAO Kui-Jun\*, FAN Dong, LIU Jian (College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

**Abstract:** Cytochrome oxidase subunit II gene segment of *Aphis glycines* was cloned and sequenced. The length of the sequence was 810 bp (GenBank accession no. DQ265743). The sequence was contrasted with other aphids registered at GenBank to identify their molecular homology. One pair of sequence-characterized primer was developed, and its amplified single band was about 270 bp. The specificity tests performed with this pair of primer showed the presence of the band only in *A. glycines*. Molecular identification of the natural enemies fed on *A. glycines* was tested with the specific primer. The results indicated that the target DNA fragment of *A. glycines* was detected in guts of the predatory insects *Harmonia axyridis*, *Propylaea japonica*, *Chrysopa septempunctata*, and *Orius similis*, but not detected in the above predatory insects without feeding *A. glycines*.

**Key words:** *Aphis glycines*; cytochrome oxidase subunit II gene; clone; natural enemy; predatory insects; molecular identification

大豆蚜 *Aphis glycines* Matsumura 属同翅目 Homoptera 蚜科 Aphididae 蚜属 *Aphis*, 分布在东北、华北、内蒙古、宁夏、台湾、华南、西南等省区, 是栽培大豆上主要的农业害虫之一。大豆蚜通过刺吸进行危害, 造成叶片卷曲、节间缩短、植株矮化等症状 (王素云等, 1996), 严重发生时可引起植株的死亡。大发生年份若防治不及时, 轻则减产 20% ~ 30%, 重则

减产 50% 以上 (王春荣等, 1998)。大豆蚜也是多种植物病原病毒田间扩散、传播的媒介, 常引起大豆花叶病等病害在田间流行 (李尉民和濮祖芹, 1991)。2000 年以来, 大豆蚜的危害呈扩大趋势, 先后侵入到北美洲 (Ragsdale *et al.*, 2004) 和大洋州 (Fletcher and Desborough, 2002) 等地区, 对当地的农业生产构成了潜在的威胁, 同时也正升级为一种受到广泛关

基金项目: 黑龙江省“十一五”攻关重点项目 (GB06B105)

作者简介: 高红秀, 女, 1980 年 9 月生, 硕士研究生, E-mail: gaohongxiu\_1999@163.com

\* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: kjzhao@neau.edu.cn

收稿日期 Received: 2006-04-07; 接受日期 Accepted: 2006-06-23

注的世界性害虫。

目前,利用天敌昆虫对大豆蚜进行生物防治,是大豆蚜综合治理的一个重要方面。以往对捕食者-猎物之间关系的研究常采用田间直接观察法(Carter and Dixon, 1982; Carter *et al.*, 1984; Legaspi *et al.*, 1996; Heimpel *et al.*, 1997; Munyaneza and Obrycki, 1998)天敌消化道解剖法(Hengeveld, 1980)或酶联免疫吸附法(多克隆/单克隆抗体免疫法)(Hagler *et al.*, 1993; 刘雨芳等, 2002)。在田间直接观察捕食者是非常困难的,而且浪费时间;而免疫学分析法虽然比较有效,但费用昂贵。基于这些原因,在分子水平上发展了一系列鉴定被捕食者残留物的技术,特别是 DNA 技术。利用分子生物学技术及生物共用的保守区序列,在未知目标昆虫基因组的情况下,借助通用的引物就可扩增相关的基因。此外,通过对多种目标种类系统发育研究,获得其序列,并设计特异引物,其序列公开后,就可被广泛使用。现在 PCR 技术已成为分子生物学中强有力的工具之一。

我们克隆和测定了大豆蚜细胞色素氧化酶 II (CO II) 基因序列,利用 CO II 基因对大豆蚜天敌昆虫进行 PCR 技术鉴定,拟为大豆蚜捕食性天敌谱的研究提供分子生物学依据,同时为特定捕食性天敌昆虫捕食作用的定性检测提供借鉴,为充分利用自然天敌提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

实验昆虫:从田间采集大豆蚜在人工培养箱中进行饲养,温度 25℃,光周期 13L:11D。麦二叉蚜 *Schizaphis graminum*、桃蚜 *Myzus persicae*、玉米蚜 *Rhopalosiphum maidis*、禾谷缢管蚜 *Rhopalosiphum padi* 和麦长管蚜 *Sitobion avenae* 采集于东北农业大学香坊区小麦、玉米试验田;茄无网长管蚜 *Acyrtosiphon solani* 采集于东北农业大学香坊区大豆试验田。

主要试剂:PCR 试剂和 Taq 酶购自宝泰克生物科技公 司。PCR 产物纯化试剂盒、pMD18-T 载体、质粒提取试剂盒均购自 TaKaRa 公司。转化宿主细胞为 JM109 大肠杆菌。

### 1.2 方 法

1.2.1 蚜虫总 DNA 的提取:将蚜虫用蒸馏水洗净,按 Zhu 和 Greenston(1999)提取总 DNA 的方法提取大豆蚜基因组 DNA。

1.2.2 PCR 扩增与检测:CO II 基因扩增上游引物:

5'-CATTGATATTCAGAATTACC-3'; 下游引物:5'-GAGACCATTACTTGCTTTTCAGTCATCT-3'。引物由北京赛百盛公司合成。PCR 扩增条件:引物 0.2 μmol/L; dNTP 0.06 mmol/L; Mg<sup>2+</sup> 2 mmol/L; Taq 聚合酶 1.25 U; DNA 模板 2 μL; 10× buffer 2.5 μL; 灭菌双蒸水补齐至 25 μL。PCR 扩增程序:95℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 1 min, 50℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 共 30 个循环,最后 72℃ 延伸 10 min。扩增反应在 LongGene PCR 仪上进行。取 8 μL PCR 产物加入 2 μL 上样缓冲液,用 1.0% 琼脂糖凝胶经 EB 染色后电泳,电泳条件:电压 80 V,室温下电泳 30 min;随后用 UVIBAND V9.9 系统分析,最后选用 DNA Marker DL2000 分析 DNA 片段大小。

1.2.3 PCR 产物回收、纯化、克隆、转化与测序:将 PCR 扩增产物回收并从琼脂糖上切下放入 1.5 mL EP 管中,按照胶回收试剂盒的使用说明,回收相应的目的条带。纯化后的 PCR 产物与 pMD18-T 载体连接,之后将 10 μL 连接产物转化到 100 μL 的 JM109 感受态宿主菌中,取 110 μL 转化产物涂在含氨苄(质量浓度 100 mg/L)的 LB 平板上 37℃ 恒温箱过夜,然后挑取单个白色菌斑接入 LB 液体培养基中 37℃(220 r/min)过夜培养,采用碱裂解法提取质粒,质粒经 *EcoR* I 和 *Pst* I 双酶切鉴定正确后,将提取质粒送往大连宝生物工程有限公司进行测序。

1.2.4 数据分析:用 DNAMAN 软件进行同源排序和序列分析。

1.2.5 特异引物设计:利用 Oligo 软件对所测得的大豆蚜 CO II 基因序列与 GenBank 相应序列进行排序分析,设计出一对大豆蚜的特异引物。上游引物:5'-AATACCTTCTCTCCACTTACTT-3'; 下游引物:5'-TTGCTAGTCTTGGGATAGT-3'。PCR 扩增条件:引物 1 μmol/L; dNTP 0.1 mmol/L; Mg<sup>2+</sup> 2.5 mmol/L; Taq 聚合酶 1.25 U; DNA 模板 2 μL; 10× buffer 2.5 μL; 灭菌双蒸水补齐至 25 μL。PCR 扩增程序:94℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 1 min, 57℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 1 min, 共 35 个循环,最后 72℃ 延伸 5 min。取 10 μL 反应产物,在 1.5% 琼脂糖凝胶中电泳,分析电泳结果。

1.2.6 特异引物验证:以大豆蚜、麦二叉蚜、桃蚜、玉米蚜、禾谷缢管蚜、麦长管蚜和茄无网长管蚜基因组 DNA 为模板,用大豆蚜的特异引物按上述的反应体系和扩增程序进行扩增。

1.2.7 大豆蚜天敌的 PCR 鉴定:捕食性天敌采集于东北农业大学香坊区大豆试验田,于大豆蚜盛发

期间采集捕食性天敌: 异色瓢虫 *Harmonia axyridis*、龟纹瓢虫 *Propylaea japonica*、大草蛉 *Chrysopa septempunctata*、小花蝽 *Orius similes*。在实验 24 h 前将天敌的食物除去, 然后用大豆蚜喂食天敌, 观测直到他们已取食大豆蚜, 而对于那些没有取食大豆蚜的昆虫从本实验中除去。提取那些已取食蚜虫天敌的基因组 DNA, 然后用大豆蚜的特异引物进行扩增。对大豆蚜捕食性天敌进行检测时, 以大豆蚜为阳性对照, 以饥饿 24 h 的异色瓢虫幼虫、龟纹瓢虫幼虫、大草蛉幼虫、小花蝽幼虫和成虫为阴性对照。

## 2 结果与分析

### 2.1 大豆蚜 CO II 基因扩增结果

以大豆蚜总 DNA 为模板, 用通用引物进行 PCR 扩增, 可得到约 800 bp 的 DNA 片段, 其中阴性对照没有出现条带, 证明扩增的条带真实可靠 (图 1)。

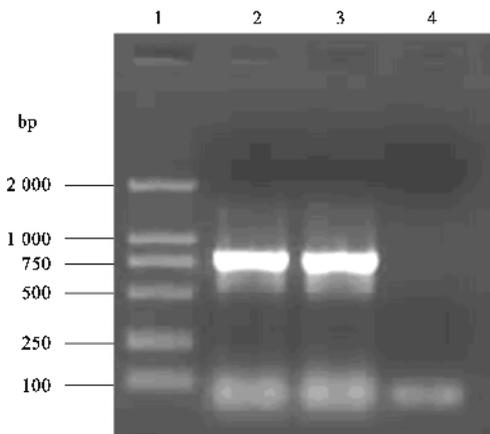


图 1 PCR 扩增结果

Fig. 1 The result of PCR

1: 分子量标准 DNA marker DL2000; 2, 3: PCR 扩增产物 Product of PCR; 4: PCR 阴性对照 PCR without template.

### 2.2 序列测定结果与分析

经序列测定, 测得的基因长度为 810 bp。将所得的基因序列在 NCBI 网站 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 上进行 BLAST 相似性搜索, 结果显示, 所得序列为大豆蚜部分 CO I 基因、完整的 CO II 基因序列以及两侧亮氨酸 tRNA 基因和赖氨酸 tRNA 基因。大豆蚜 CO II 基因 A、T、G 和 C 含量分别为 40.77%、39.43%、7.74% 和 12.05%, A + T 含量为 80.20%, G + C 含量为 19.79% 表现出非常强的 A + T 含量偏向性; 大豆蚜与禾谷缢管蚜、麦长管蚜、麦二叉蚜、玉米蚜、茄无网长管蚜的核苷酸同源性分别为 92.67%、92.83%、91.53%、93% 和 93.32%。图 2 为

```

CATTCATATTGAGAATACCACCTAATACTAATTTCTAATATGGCAGAATTTACATGCAA
H S Y S E L P L I T N F * Y G S I Y M Q
61 TGAACCTAAAAATCATTATAAAGAATAATCTTTTTAGAAAATATAACTTGAATAAAA
W T * N S F M K N N L F L E I M T W M K
121 CTAAGATTTCAAAAATAGAAAATCCACCTAATAGAACAAATTAATTTTTTTCATGATCAT
L S F Q N S N S P L M E Q L I F F H D H
181 ACAATCTTTATTATTATAATATATATCAACAATTAATTTATATAATATTTATTATA
T I F I I I M I M S T I T Y M M L F I M
241 AAAAAATAAATTCATTAATATAAATTTCTGAAAATCAAATAATGAATTTATTGAAACA
K N K F I N I K I S E N Q M I E F I W T
301 ACAACTCCACCTATTATCTTAATTTTTATTGCAATACCTTCTCCACTTCCATTTATTTA
T T P P I I L I F I A M P S L H L L Y L
361 ATAGATGAAATTAATGTCCTGTTTTAAACAATAAATTTTTTGACATCAATGATTTTGA
M D E I K C P V L T I K I F G H Q W F W
421 TCTTATGAATATTCAGATTTTTCTAATATTGAATTTGAATCTTATATAACAATAAGAAATTA
S Y E Y S D F S N I E F E S Y M T N E L
481 AATAAAGAAAATTTTCGTTAATTTGAAGTAGATAATAAATACTATTCCACCTCAAATTT
N K E N F R L I E V D N K T I L P F K F
541 AATATTGATTTAATCTCATCAGACGATGAATTCATTCATGAACATCCCAAGACTA
N I R L L I S S D D V I H S W T I P S L
601 GCAATTAATAATGATGCAATCCAGGACGAATAAATAAATAAATCACTTTTTATAAATCGA
A I K I D A I P G R M N Q I N L F M N R
661 CCAGAAATTTATTGAGCAATGTTGAGAAATTTGGAATTAATCATAGATTTATACCT
P G I Y F G Q C S E I C G I N H S F M P
721 ATTCAAATGAAATCAATTAATTTAAATAAATTTATTATTGAAATTAATAAATTTTAATTC
I Q I E S I N L N K F I Y W I K N F * F
781 ATTAGATGACTGAAAGCAAGTAATGGTCTC
I S W L K A S N G L

```

图 2 大豆蚜细胞色素氧化酶 II 基因核苷酸序列测定结果及其推行的氨基酸序列

Fig. 2 Nucleotide and deduced amino acid sequence of CO II gene from *Aphis glycines*

大豆蚜细胞色素氧化酶 II 基因核苷酸序列测定结果及其推行的氨基酸序列 (GenBank 登录号为 DQ265743)。

### 2.3 大豆蚜特异引物 PCR 扩增及鉴定结果

以大豆蚜总 DNA 为模板, 用特异引物进行 PCR

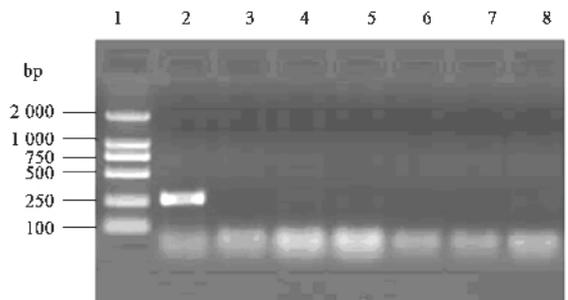


图 3 大豆蚜特异引物 PCR 扩增和鉴定结果

Fig. 3 PCR amplification and identification of *Aphis glycines* using specific primer

1: 分子量标准 DNA marker DL2000; 2: 大豆蚜 *Aphis glycines*; 3: 茄无网长管蚜 *Acyrtosiphon solani*; 4: 麦长管蚜 *Sitobion avenae*; 5: 禾谷缢管蚜 *Rhopalosiphum padi*; 6: 玉米蚜 *Rhopalosiphum maidis*; 7: 桃蚜 *Myzus persicae*; 8: 麦二叉蚜 *Schizaphis graminum*.

扩增,可得到约 270 bp 的 DNA 片段,且条带单一。以所设计的特异引物对大豆蚜及麦二叉蚜、桃蚜、玉米蚜、禾谷缢管蚜、麦长管蚜、茄无网长管蚜进行 PCR 扩增及电泳检测。结果表明,该引物只对大豆蚜具有扩增效果,对其他蚜虫种类不具有相应的扩增能力,即该引物为大豆蚜的特异引物(图 3)。

## 2.4 大豆蚜天敌 PCR 鉴定结果

按 1.2.1 节的方法提取 5 种天敌的总 DNA,然

后利用大豆蚜的特异引物进行扩增,其扩增产物均与以大豆蚜总 DNA 为模板,利用特异引物扩增的 PCR 产物大小相一致的 DNA 片段。因此,证明我们可以利用 PCR 方法,在取食过大豆蚜的异色瓢虫幼虫、龟纹瓢虫幼虫、草蛉幼虫、小花蝽成虫和幼虫的中肠中检测到大豆蚜的 DNA 片段;而在未取食蚜虫的上述天敌中却不能扩增出来,证明本实验的可靠性(图 4~5)。

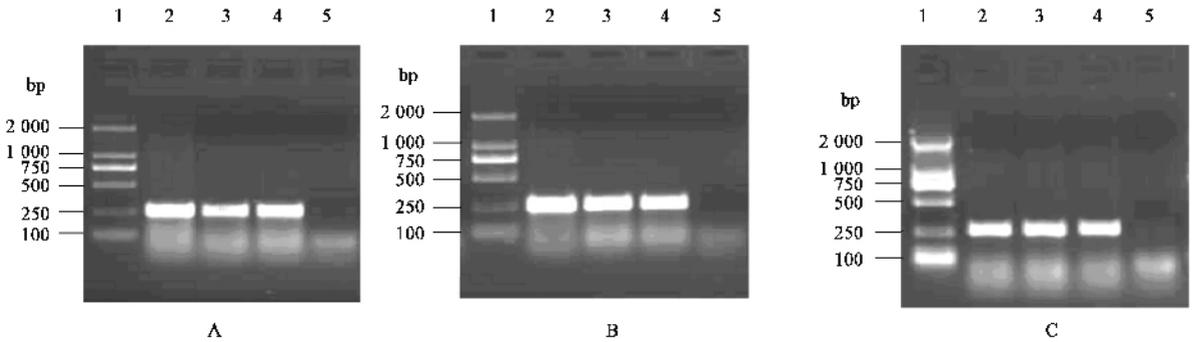


图 4 喂食大豆蚜后大草蛉(A)、异色瓢虫(B)和龟纹瓢虫(C)幼虫 PCR 扩增结果

Fig. 4 PCR amplification of *Chrysopa septempunctata* (A), *Harmonia axyridis* (B) and *Propylaea japonica* (C) fed on *Aphis glycines*

1: 分子量标准 DNA marker DL2000; 2: 大豆蚜 PCR 扩增产物 PCR amplification of *A. glycines*; 3 A 喂食大豆蚜后大草蛉(A)、异色瓢虫(B)和龟纹瓢虫(C)幼虫 PCR 扩增产物 PCR amplification of *C. septempunctata* (A), *H. ridis* (B) and *P. japonica* (C) fed on *A. glycines*; 5 未取食大豆蚜的大草蛉(A)、异色瓢虫(B)和龟纹瓢虫(C)幼虫 PCR 扩增产物 PCR amplification of *C. septempunctata* (A), *H. axyridis* (B) and *P. japonica* (C) without feeding *A. glycines*.

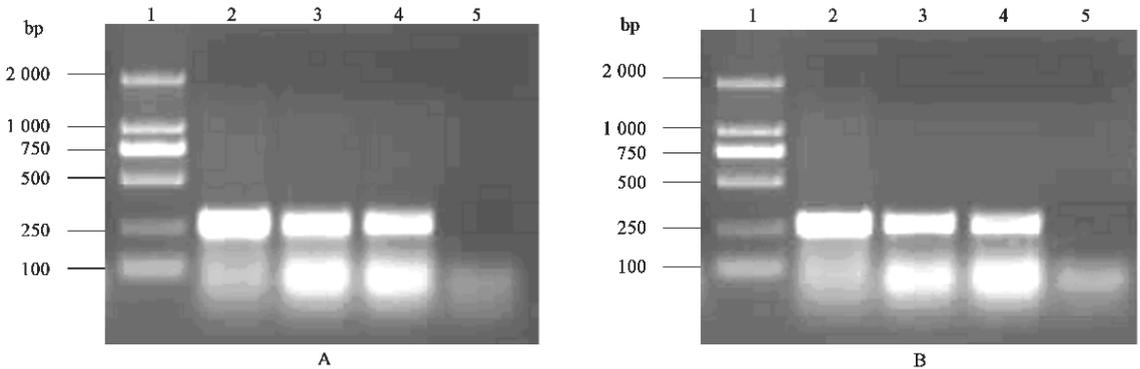


图 5 喂食大豆蚜后小花蝽幼虫(A)和成虫(B)PCR 扩增结果

Fig. 5 PCR amplification of *Orius similis* larva (A) and adult (B) fed on *Aphis glycines*

1: 分子量标准 DNA marker DL2000; 2: 大豆蚜 PCR 扩增产物 PCR amplification of *A. glycines*; 3 A: 喂食大豆蚜后小花蝽幼虫(A)和成虫(B) PCR 扩增产物 PCR amplification of *O. similis* larva (A) and adult (B) fed on *A. glycines*; 5: 未取食大豆蚜的小花蝽幼虫(A)和成虫(B) PCR 扩增产物 PCR amplification of *O. similis* larva (A) and adult (B) without feeding *A. glycines*.

## 3 讨论

DNA 分析已成为许多传统研究领域的重要辅助手段之一。线粒体基因是常用的目的基因,这主要是因为线粒体基因组分子量小,拷贝数多,符合严

格的母系遗传方式,与核基因组相比较具有更高的进化速率。在线粒体基因组中,细胞色素氧化酶 II 基因(CO II)是在昆虫系统进化研究中使用最多的蛋白质编码基因之一,是生物进化上一个保守的区域,大豆蚜 CO II 基因的测定为蚜科昆虫亲缘关系和进化历史的研究提供了重要依据。

研究捕食者-猎物间关系一直是生态学相互作用研究中最困难的问题之一,随着分子生物学的发展与进步,PCR 技术已在捕食者-猎物间关系的研究中得到广泛应用,通常可选用线粒体基因作为研究靶标。本实验以大豆蚜细胞色素氧化酶 II 基因为目标序列,利用 PCR 方法鉴定了大豆蚜的捕食性天敌,在豆田四种捕食性天敌体内都能够检测到大豆蚜的特异基因片段。验证了我们能够利用 PCR 方法定性检测害虫的天敌,从而证明利用分子生物学方法检测特定害虫的捕食性天敌谱切实可行。

应用 PCR 技术研究捕食者-猎物间关系最主要的局限是大量的生物体缺少序列信息,而且这个以 PCR 技术为基础的分析要求基因组的一个独特区域在其他种中是不能存在的(Agustí *et al.*, 1999),并且此技术的准确性受检测片段的大小、环境温度、消化时间等因素的影响,当温度较高时消化速度较快,温度较低时消化速度较慢。但是由于 PCR 技术在近代实验中表现高效和多用途的优点,它很可能将迅速取代其他所有的方法。

在害虫生物防治的研究和实践中,需要客观评估天敌动物的控害作用。天敌控害作用的评估可分为定性和定量两个方面。定性评估就是要明确所评估的天敌是否具有寄生或捕食目标害虫的能力;而定量评估则是要明确该天敌对目标害虫有多大的寄生或捕食能力,在一定的生境中能将害虫种群密度压低到哪一个水平。而从害虫治理和作物保护而言,最重要的评估标准是:天敌的寄生和捕食能否减少或免除害虫对作物的危害,从而使作物的经济性状得到有效保护?常规 PCR 技术虽以广泛应用于研究捕食者-猎物间的关系,但往往只在定性方面检测某种捕食者是否取食某些猎物,究竟何种天敌对某一特定害虫种类具有控制潜能?这就需人们对其进行定量评价。随着人们对环境保护意识的增强,以及 PCR 技术的不断完善,捕食者-猎物关系的定量研究将成为今后生态学领域研究的热点及难点之一。

**致谢** 本文部分研究内容在东北农业大学教育部大豆生物学重点实验室和农业部寒地作物生理生态重点实验室完成,特此谢忱!

### 参 考 文 献 (References)

Agustí N, de Vicente MC, Gabarra R, 1999. Development of sequence amplified characterized region (SCAR) markers of *Helicoverpa*

*armigera*: a new polymerase chain reaction-based technique for predator gut analysis. *Molecular Ecology*, 8: 1467-1474.

Carter MC, Dixon AFG, 1982. Habitat quality and the foraging behaviour of coccinellid larvae. *Journal of Animal Ecology*, 51: 865-878.

Carter MC, Sutherland D, Dixon AFG, 1984. Plant structure and the searching efficiency of coccinellid larvae. *Oecologia*, 63: 394-397.

Fletcher MJ, Desborough P, 2002. The soybean aphid, *Aphis glycines*, present in Australia. <http://www.agric.nsw.gov.au/Hort/ascu/insects/aglycin.htm>.

Hagler JR, Brower AG, Tu Z, Byrne DN, Bradley-Dunlop D, Enriquez FJ, 1993. Development of a monoclonal antibody to detect predation of the sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*. *Entomol. Exp. Appl.*, 68(3): 231-236.

Heimpel GE, Rosenheim JA, Mangel M, 1997. Predation on adult *Aphytis* parasitoids in the field. *Oecologia*, 110: 346-352.

Hengeveld R, 1980. Qualitative and quantitative aspects of the food of ground beetles (Coleoptera: Carabidae): a review. *Netherlands Journal of Zoology*, 30(4): 555-563.

Legaspi JC, Legaspi BC, Meagher RL, Ciomperlik MA, 1996. Evaluation of *Serangium parcesetosum* (Coleoptera: Coccinellidae) as a biological control agent of the silverleaf whitefly (Homoptera: Aleyrodidae). *Environmental Entomology*, 25: 1421-1427.

Li WM, Pu ZQ, 1991. Studies on the fluctuation of aphid and the epidemic of soybean mosaic virus in *Glycine max* planted in summer in Nanjing area. *Acta Phytomycolica Sinica*, 18(2): 123-126. [李尉民, 濮祖芹, 1991. 南京地区夏大豆田蚜虫的消长与大豆花叶病毒(SMV)病的流行. *植物保护学报*, 18(2): 123-126]

Liu YF, Zhang GR, Gu DX, Wen RZ, 2002. Enzyme-linked immunosorbent assay used to detect the food relationships of the arthropods in paddy fields. *Acta Entomol. Sin.*, 45(3): 352-358. [刘雨芳, 张古忍, 古德祥, 温瑞贞, 2002. 用 ELISA 方法研究稻田节肢动物的食物关系. *昆虫学报*, 45(3): 352-358]

Munyanza J, Obrycki JJ, 1998. Searching behavior of *Coleomegilla maculata* larvae feeding on Colorado potato beetle eggs. *Biological Control*, 13: 85-90.

Ragsdale DW, Voeglin DJ, O'Neil RJ, 2004. Soybean aphid biology in north America. *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, 97(2): 204-208.

Wang CR, Chen JG, Guo YR, Gong XY, 1998. Occurrence and control of soybean aphid in Heilongjiang. *Soybean Bull.*, (6): 17. [王春荣, 陈继光, 郭玉人, 宫香余, 1998. 黑龙江省大豆蚜虫发生规律与防治方法. *大豆通报*, (6): 17]

Wang SY, Bao XZ, Sun YJ, Chen RL, Zhai BP, 1996. Study on effect of population dynamics of soybean aphid (*Aphis glycines*) on both growth and yield of soybean. *Soybean Science*, 15(3): 243-247. [王素云, 暴祥致, 孙雅杰, 陈瑞鹿, 翟保平, 1996. 大豆蚜虫对大豆生产和产量影响的试验. *大豆科学*, 15(3): 243-247]

Zhu YC, Greenstone MH, 1999. Polymerase chain reaction techniques for distinguishing three species and two strains of *Aphelinus* (Hymenoptera: Aphelinidae) from *Diuraphis noxia* and *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae). *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, 92: 71-79.