



# Formosan Entomologist

Journal Homepage: [entsocjournal.yabee.com.tw](http://entsocjournal.yabee.com.tw)

## Phylogeny of Aphids (Hemiptera: Aphidoidea) in Taiwan Based on the Combined Molecular Characteristics of the Aphid and its Primary Endosymbiont **【Research report】**

以蚜蟲 (半翅目：常蚜總科) 及其初級內共生菌之分子特徵 探討臺灣地區蚜蟲之系統發生 **【研究報告】**

Chia-Yu Chen, and Mei-Hwa Kuo\*

陳佳郁、郭美華\*

\*通訊作者E-mail: [✉ mhkuo@dragon.nchu.edu.tw](mailto:mhkuo@dragon.nchu.edu.tw)

Received: 2014/06/10 Accepted: 2014/07/03 Available online: 2014/08/01

### Abstract

The three families of aphids (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aphidoidea) from Taiwan are divided into 11 subfamilies. This study presents the higher-level phylogenetic relationships among 6 subfamilies and 33 species, excluding the outgroup Adelges tsugae (Adelgidae), using a combined molecular dataset (16S ribosome DNA of Buchnera aphidicola, DNA Barcoding cytochrome oxidase I and downstream, cytochrome oxidase II, elongation factor 1- $\alpha$  sequences). The maximum parsimony and Bayesian phylogenetic analysis revealed that the higher-level relationships among Aphididae were different from previous morphological or molecular classifications. Drepanosiphinae are on the basal clade, rather than in the monophyletic group with Aphidinae. Analyses supported the monophyly of Aphidini and its subtribes, Aphidina and Rhopalosiphina. Macrosiphini were also monophyletic. Our findings of the relative relationship of Aulacorthum nipponicum and Acyrthosiphon spp. on our phylogenetic trees, supports moving Au. nipponicum from Aulacorthum to the new genus Neoaulacorthum.

### 摘要

蚜蟲隸屬於半翅目 (Hemiptera) 胸喙亞目 (Sternorrhyncha) 常蚜總科 (Aphidoidea)。目前臺灣有3科11亞科的蚜蟲。本研究取樣常蚜科 (Aphididae) 6亞科33種蚜蟲。外群為球蚜科 (Adelgidae) 鐵杉球蚜 (Adelges tsugae)。利用合併四段分子特徵分別為蚜蟲初級內共生菌 (Buchnera aphidicola) 之16S rDNA、蚜蟲粒線體COI (包含上游基因條碼及下游) 及COII、蚜蟲核基因EF1- $\alpha$ 。建構系統發生樹以釐清其高階親緣關係。最大簡約及貝氏系統發生分析顯示亞科級的分群與前人以形態或分子特徵之研究明顯不同。斑蚜亞科 (Drepanosiphinae) 位於系統樹之基部，而非與常蚜亞科 (Aphidinae) 位於末端的單系群內。常蚜亞科之分群結果為支持常蚜族 (Aphidini) 及其亞族 (常蚜亞族 (Aphidina) 及縊管蚜亞族 (Rhopalosiphina)) 之單系群關係，且網管蚜族 (或稱長管蚜族、Macrosiphini) 亦為單系群，與形態特徵結果一致。根據雞屎藤蚜 (Aulacorthum nipponicum) 與光額蚜屬 (Acyrthosiphon) 在系統樹上之相對關係，支持將雞屎藤蚜由粗額蚜屬 (Aulacorthum) 移至新粗額蚜屬 (Neoaulacorthum)。

**Key words:** Buchnera aphidicola, Adelgidae, maximum parsimony, Bayesian inference, DNA barcoding

**關鍵詞:** 蚜蟲初級內共生菌、球蚜科、最大簡約、貝氏推論、基因條碼。

Full Text: [PDF \(1.39 MB\)](#)

下載其它卷期全文 Browse all articles in archive: <http://entsocjournal.yabee.com.tw>

# 以蚜蟲 (半翅目：常蚜總科) 及其初級內共生菌之分子特徵 探討臺灣地區蚜蟲之系統發生

陳佳郁、郭美華\*

國立中興大學農業暨自然資源學院昆蟲學系 40227 台中市南區國光路 250 號

## 摘 要

蚜蟲隸屬於半翅目 (Hemiptera) 胸喙亞目 (Sternorrhyncha) 常蚜總科 (Aphidoidea)。目前臺灣有 3 科 11 亞科的蚜蟲，本研究取樣常蚜科 (Aphididae) 6 亞科 33 種蚜蟲，外群為球蚜科 (Adelgidae) 鐵杉球蚜 (*Adelges tsugae*)，利用合併四段分子特徵分別為蚜蟲初級內共生菌 (*Buchnera aphidicola*) 之 16S rDNA、蚜蟲粒線體 COI (包含上游基因條碼及下游) 及 COII、蚜蟲核基因 EF1- $\alpha$ ，建構系統發生樹以釐清其高階親緣關係。最大簡約及貝氏系統發生分析顯示亞科級的分群與前人以形態或分子特徵之研究明顯不同，斑蚜亞科 (Drepanosiphinae) 位於系統樹之基部，而非與常蚜亞科 (Aphidinae) 位於末端的單系群內。常蚜亞科之分群結果為支持常蚜族 (Aphidini) 及其亞族 (常蚜亞族 (Aphidina) 及縊管蚜亞族 (Rhoplosiphina)) 之單系群關係，且網管蚜族 (或稱長管蚜族、Macrosiphini) 亦為單系群，與形態特徵結果一致。根據雞屎藤蚜 (*Aulacorthum nipponicum*) 與光額蚜屬 (*Acyrtosiphon*) 在系統樹上之相對關係，支持將雞屎藤蚜由粗額蚜屬 (*Aulacorthum*) 移至新粗額蚜屬 (*Neoaulacorthum*)。

**關鍵詞：**蚜蟲初級內共生菌、球蚜科、最大簡約、貝氏推論、基因條碼。

## 前 言

蚜蟲隸屬於半翅目 (Hemiptera)，胸喙亞目 (Sternorrhyncha)，最早 Linnaeus (1758) 描述 39 種蚜蟲 (14 種為球蚜)，至今全球已被

描述的蚜蟲有 5,000 種之多 (Remaudière and Remaudière, 1997; Foottit *et al.*, 2008)。本研究之分類群中文名及蚜蟲中文名皆採用陶家駒先生編著的臺灣省蚜蟲誌命名 (Tao, 1990)，分類群若有其他大陸常用中文

\*論文聯繫人  
Corresponding email: mhkuo@dragon.nchu.edu.tw

名，則於首次出現時註明於括號中。有關蚜蟲的分類系統由 Baker (1920) 將蚜蟲歸納為常蚜總科 (Aphidoidea) 下有 2 科為根瘤蚜科 (Phylloxoridae) 及常蚜科 (Aphididae)，常蚜科又分成 4 亞科，一些亞科又分類至族及亞族。Börner (1930) 則加入更多形態特徵，增加了球蚜科 (Adelgidae) 及榆樹綿蚜科 (或稱綿蚜科、Eriosomatidae) 的 4 科 9 亞科分類系統。隨著新物種增加及所使用的分類特徵不同，除了球蚜及根瘤蚜已被視為一群，其他常蚜類則愈分愈細，直到 Heie (1980) 發展出 2 總科，根瘤蚜總科 (Phylloxoroidae) 下為球蚜科及根瘤蚜科，常蚜總科下則分為 10 科。Blackman and Eastop (1994) 將常蚜總科分成 3 科，即球蚜科、根瘤蚜科及常蚜科，原位於 Heie 系統之 10 科則移到常蚜科下 11 個亞科之中，包括短痣蚜亞科 (Anoeciinae)、常蚜亞科 (Aphidinae)、毛蚜亞科 (Chaitophorinae) (在 Heie 分類系統中之階級即為亞科)、斑蚜亞科 (Drepanosiphinae)、毛管蚜亞科 (Greenideinae)、扁蚜亞科 (Hormaphidinae)、大蚜亞科 (Lachninae)、纒蚜亞科 (Mindarinae)、綿癭蚜亞科 (Pemphiginae)、平翅綿蚜亞科 (Phloeomyzinae) 及群蚜亞科 (Thelaxinae)。臺灣的 11 科分類系統 (包括球蚜及根瘤蚜) 與 Heie (1980) 相似，將毛蚜亞科提升至科級，但臺灣並無纒蚜科 (Mindaridae) 及平翅綿蚜科 (Phloeomyzidae) 的蚜蟲 (Tao, 1990, 1999)。然而蚜蟲的高階分類仍有許多爭議，Remaudière and Remaudière (1997) 則將常蚜科更細分為 25 個亞科。本研究則採用國外最廣泛使用的 Blackman and Eastop (1994)。

植食性蚜蟲包羅了許多生命萬象如：單食性或多食性、卵生或胎生、無性世代的孤雌生殖或包含無性及有性世代的循環式孤雌生殖

(cyclical parthenogenesis)、多態型、社會性兵蚜、內與共生菌互利共生 (endosymbiotic mutualism) 及外與螞蟻互利共生 (ant mutualism)、造癭、寄主植物轉換等，著實為許多生態、分子生物、演化議題及氣候變遷的最佳研究對象 (Chen *et al.*, 2013; Hansen and Moran, 2014; Ogawa and Miura, 2014; Yao, 2014)。系統發生學是一個利用現有物種的特徵性狀來推估並重建過去歷史演變的一門科學。蚜蟲自白堊紀後期 (Late Cretaceous) 與寄主植物同時輻射演化，其目前用來鑑定診斷的形態特徵不是遺失或重疊性高就是有趨同演化的現象，因此除了形態特徵外，蚜蟲的分類學還會使用一些生活史特性作為分類特徵，而事實上蚜蟲的寄主植物有助於物種的鑑定 (von Dohlen and Moran, 2000; Coeur d'acier *et al.*, 2007)。如：球蚜的分類是依形態特徵為主，以生殖特性及寄主植物利用為輔，但其複雜的多態型生活史及有用的分類特徵有限，所以備受爭議 (Havill *et al.*, 2006; Havill *et al.*, 2007)。近年分子技術的發展卓越，1995 年後開始有許多以分子特徵應用於蚜蟲系統發生的研究報告，除了蚜蟲本身的一些高保守基因外，尚會利用蚜蟲初級內共生菌 (*Buchnera aphidicola*) 的基因序列作為分子特徵，來解決蚜蟲不同階層的親緣關係 (Funk *et al.*, 2000; Martínez-Torres *et al.*, 2001)。

Nováková *et al.* (2013) 發現以初級內共生菌的基因作為系統發生之分子特徵，相較於蚜蟲的基因更能解釋其寄主蚜蟲一些未明確的親緣關係；蚜蟲初級內共生菌之 16S rDNA (ribosome DNA) 配合其他分子特徵，可解析蚜蟲高或低階分類 (Martínez-Torres *et al.*, 2001; Lozier *et al.*, 2007; Liu *et al.*, 2013)。粒線體基因在昆蟲系統發育中使用最廣泛，尤

其以 COI (cytochrome oxidase I) 上游約 658 bp 的序列為動物界的基因條碼 (Hebert *et al.*, 2003)，除了可用在物種鑑定及分類外、還可發現隱蔽種及用於探討近緣種、姐妹種、複合種或族群等低階系統發生 (Footitt *et al.*, 2008; Žurovcová *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2011b; Rebijith *et al.*, 2013)。然而 COI 下游/COII 在 1994~2008 年間常被使用在蚜蟲之系統發生 (Stern, 1994; Coeur d'acier *et al.*, 2008)，另外蚜蟲染色體基因如：EF1- $\alpha$  (elongation factor 1- $\alpha$ ) 最為普遍，EF1- $\alpha$  序列因為內含子及旁系同源複本 (paralogous copies) 較少，易於 PCR 放大，適合解析屬級及屬以上的分類階層 (Zhang and Qiao, 2006)。故本研究選擇了 1 個初級內共生菌之 16S rDNA、3 個常用的蚜蟲分子特徵：粒線體之 COI 及 COII、染色體之 EF1- $\alpha$ ，以四段分子特徵之合併序列資料組進行臺灣地區蚜蟲之分子系統發生。

## 材料與方法

### 一、蚜蟲 genomic DNA 之萃取

本研究採集 6 亞科 33 種共 39 個蚜蟲樣本，其採集資訊詳見表一。將採集來的蚜蟲以 95% 以上之乙醇保存攜回實驗室並存放於 -20°C 下，或直接存放於 -80°C。利用 Wizard® Geneomic DNA Purification Kit (Promega Corporation, Cat. No. A1120) 進行 DNA 萃取，純化後的蚜蟲 genomic DNA 置於 4°C 備用或 -20°C 長久保存。

### 二、利用聚合酶鏈鎖反應 (PCR) 技術增幅目標分子特徵及 DNA 定序

本研究採用四段分子特徵如下：蚜蟲初級內共生菌之 16S rDNA 區域，蚜蟲粒線體

DNA 之 COI/COII 區域 (DNA Barcoding COI·COI 下游及 COII)，蚜蟲染色體之 EF1- $\alpha$  區域，各引子之增幅片段大小及引用文獻如表二所示。其中 COI 下游之正向引子 COIU670A (5'-GGAGGAGGAGACCCTATT-3') 及反向引子 COID1280A (5'-TCCTAAAAAATGTTGAGGGAA-3') 則修改自木蝨 COI 下游之專一引子對 COIU670-Psy-Phth & COID1280-Psy-Phth (Shen, 2006)。PCR 反應物為 2  $\mu$ L genomic DNA、4 units Pro Taq DNA polymerase (Protech Technology Enterprise Co., LTD., Cat. No. PTM525)、1  $\times$  Pro Taq buffer (10 mM Tris-HCl, pH 9.5, 50 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.01% gelatin, 0.1% Triton X-100)、0.25 mM dNTP (Protech Technology Enterprise Co., Ltd., Cat. No. PTM8014)、0.2  $\mu$ M 正向引子 (sense primer) 及 0.2  $\mu$ M 反向引子 (antisense primer)，最後加入無菌水至 25  $\mu$ L。利用 Biometra® TGradient 96 溫度控制器進行總體積 25  $\mu$ L 的聚合酶鏈鎖反應，循環溫度及時間為 95°C / 2 min 預熱，接著 35 個循環之 95°C / 1 min、54°C / 30 sec、72°C / 1 min，最後為 72°C / 20 min 的修補延伸。或以 Step-up PCR (95°C / 2 min 預熱，先以 5 個循環之 95°C / 1 min、45°C / 1 min、72°C / 1 min，再進行 30 個循環之 95°C / 1 min、50°C / 1 min、72°C / 1 min，最後為 72°C / 5 min 的修補延伸) 來增幅比較難以放大之片段。

PCR 產物以 GeneMark DNA Clean/Extraction Kit (GMBiolab Co., Ltd, Cat. No. DP034) 膠體回收純化後，委託國立中興大學生物科技發展中心核酸定序服務實驗室以 ABI Prism® 3730 Sequencer，依據雙去氧核酸鏈終止定序法 (dideoxynucleotide chain termination sequencing method) (Sanger

*et al.*, 1977) 利用 BigDye<sup>®</sup> Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kits (Applied Biosystem) 進行定序。

### 三、序列分析及系統發生樹之建構

利用 CLC DNA Workbench v.6.6.1 套裝軟體 (Knudsen *et al.*, 2008) 將正反向之定序結果進行組裝 (CLC Toolbox: assembled sequences), 並從 NCBI (Natural Center for Biotechnology Information) 網站之 GenBank 中搜尋已發表的相關序列片段來進行比對 (CLC Toolbox: BLAST at NCBI), 以確認產物序列之正確性。接著進行多重序列比對 (CLC Toolbox: create alignment), 以確認序列間的相似性。合併四段分子特徵多重比對結果 (CLC Toolbox: joined alignment) 之前, 先分別以 Gblocks v.0.91b 軟體移除不明確之區域 (參數設定之 allowed gap option 設為 with half, 其他參數採用預設值) (Castresana, 2000)。另外, 各分子特徵分別以 jModelTest v.2.1.5 運算核苷酸鹼基取代 (substitution) 最佳模型 (Darriba *et al.*, 2012), 以最小 AIC 值來決定, 並用在遺傳距離計算上, 在貝氏推論 (Bayesian inference) 分析中則以最小 BIC 值來決定 (表三)。接著以 MEGA v.6 分析核苷酸基本資訊及遺傳距離等 (Tamura *et al.*, 2013)。本研究採用之外群為前人發表之鐵杉球蚜 (*Adelges tsugea*) 內共生菌 16S rDNA (Accession No. KC331976) (von Dohlen *et al.*, 2013)、DNA Barcoding COI (EF073091)、COII (EF073153) 及 EF1- $\alpha$  (EF073242) (Havill *et al.*, 2007)。外群缺少的分子特徵 (*Adelges tsugea* 之 COI 下游) 則視為 missing data。

最大簡約 (maximum parsimony) 分析利用 PAUP\* v.4.0b10 軟體建構系統樹

(Swofford, 2003), 先逐步加入 (stepwise addition) 分類群創建一個樹, 以 TBR (tree bisection reconnection) 枝條交換法及隨機加入 (random addition) 序列之啟發式搜尋 (heuristic search) 1,000 次, 每次搜尋保留 10 個樹。枝條支持度計算則以拔靴法 (bootstrap) 隨機取樣出虛擬重複資料組 (pseudoreplicate data set) 1,000 次, 每次採用啟發式搜尋程序 (設定同上但僅搜尋 100 次) 及最大樹 (maxtree) 為 200 個。貝氏事後機率系統樹以 MrBayes v3.1.2 軟體分析 (Huelsenbeck and Ronquist, 2001; Ronquist and Huelsenbeck, 2003), 設定適合各段分子特徵之最佳演化模型 (表三), 且分子特徵之參數為獨立分析 (unlink), 同時進行兩個獨立的梅氏耦合蒙地卡羅馬可夫鏈 (Metropolis-coupled Markov chain Monte Carlo, MC<sup>3</sup>), 預設為四條馬可夫鏈 (1 冷鏈、3 熱鏈)。起始樹設定為隨機, 進行 5,000,000 個世代 (generation), 每 100 個世代取樣一次, 當兩個 MC<sup>3</sup> 分析中的系統樹愈來愈相似 (即 average standard deviation of split frequencies  $\leq 0.01$ ), 且收斂診斷 (potential scale reduction factor) 趨近於 1.0 時, 接著總結 (Summarizing) 取代模型參數值及系統樹資訊 (如樹長及枝條長度) 中, 預燒分數 (burninfrac) 指令分別為 0.25, 代表有 25% 的樣本將被捨棄, 剩餘樣本則合併為一個 50% 多數決共同樹 (50% majority rule consensus tree), 枝條支持度則以貝氏推論的事後機率 (posterior probability of Bayesian inference) 表示。

## 結 果

本研究合併蚜蟲初級內共生菌之 16S

表一 本研究所用蚜蟲之分類階級及採集資訊

Table 1. Taxonomic and collection information of the aphids used in this study

Subfamily	Tribe	Subtribe	Species	Voucher code	Collection locality and date	Host plant
Adelginae			<i>Adelges tsugae</i> <sup>1)</sup>	CNC HEM 053427	Taichung City, Dayuling; 23 Dec. 2004	<i>Tsuga chinensis</i> var. <i>formosana</i> (臺灣鐵杉)
Pemphiginae	Fordini		<i>Formosaphis micheliae</i>	30-1	Taichung City, NCHU; 27 Apr 2001	<i>Michelia alba</i> (玉蘭)
Greenideinae	Greenideini		<i>Greenidea formosana</i>	181	Taichung City, Heping Dist., Dasyueshan; 7 Jul 2005	<i>Psidium guajava</i> (番石榴)
			<i>Mollitrichosiphum taiwanum</i>	2001-37	Taichung City, Heping Dist., Basianshan; 27 Jun 2006	<i>Meliosma callicarpifolia</i> (紫珠葉泡花樹)
Anoeciinae	Aiceonini		<i>Aiceona actinodaphni</i>	2042-45	Taichung City, Beitun Dist. Dakeng, ; 6 Oct 2005	<i>Litsea krukovii</i> (小梗木薑子)
			<i>Aiceona osugii</i>	6035-36	Nantou Co., Peitungyenshan; 21 Apr 2007	<i>Litsea coreana</i> (鹿皮斑木薑子)
Drepanosiphinae	Myzocallidini	Myzocallidina	<i>Neophyllaphis podocarp</i>	3001-14	Taichung City, NCHU; 25 Apr 2006	<i>Podocarpus</i> sp. (羅漢松)
Chaitophorinae	Chaitophornii		<i>Periphyllus koelreuteriae</i>	5049-52	Hsinchu Co., Baoshan; 16 Mar 2007	<i>Koelreuteria henryi</i> (臺灣樂樹)
Aphidinae	Macrosiphini		<i>Acyrtosiphon kondoi</i>	19016	Hualien Co.; 28 May 2010	<i>Crotalaria pallida</i> (黃野百合)
			<i>Acyrtosiphon pisum</i>	1069	Taichung City, Wufeng Dist.; 29 Mar 2005	<i>Pisum sativum</i> (豌豆)
			<i>Aulacorthum nipponicum</i>	11068-81	Taichung City, NCHU; 27 Mar 2009	<i>Paederia foetida</i> (雞屎藤)
			<i>Brevicoryne brassicae</i>	11001-26	Taichung City, Heping Dist., Lishan; 18 Mar 2009	<i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i> (高麗菜)
			<i>Capitophorus formosartemisiae</i>	10010	Tainan City, Annan Dist.; 6 Apr 2008	<i>Crossostephium chinense</i> (芙蓉菊)
			<i>Capitophorus hippophaes</i>	28033-38	Yilan Co., Sanxing; 16 May 2011	<i>Polygonum</i> sp. (蓼)
			<i>Cavariella salicicola</i>	158	Taichung City, Wufeng Dist.; 25 Mar 2005	<i>Apium graveolens</i> (芹菜)
			<i>Hyperomyzus carduellinus</i>	148	Nantou Co., Jiji; 25 Jan 2005	<i>Pterocypsela indica</i> (鴉仔草)
			<i>Indomegoura indica</i>	151	Taichung City, Wufeng Dist.; 24 Mar 2005	<i>Hemerocallis fulva</i> (金針花)
			<i>Indomegoura indica</i>	182-4	Taipei City, Yangmingshan; 16 Jul 2005	<i>Euscaphis japonica</i> (野鴨椿)
			<i>Indomegoura indica</i>	30069-79	Hualien Co., Fuli; 16 Aug 2011	<i>Hemerocallis fulva</i> (金針花)
			<i>Lipaphis erysimi</i>	142-3	Taichung City, Wufeng Dist.; 30 Dec 2004	<i>Brassica campestris pekinensis</i> (山東大白菜)

<sup>1)</sup> Outgroup sequences adopted from von Dohlen *et al.* (2013) and Havill *et al.* (2007).

表一 (續)  
Table 1. (continued)

Subfamily	Tribe	Subtribe	Species	Voucher code	Collection locality and date	Host plant
			<i>Lipaphis erysimi</i>	9001-18	Hsinchu Co., Hukou; 20 Dec 2007	<i>Raphanus sativus</i> (蘿蔔)
			<i>Myzus formosanus</i>	149	Taipei City, Yangmingshan; 27 Jan 2005	<i>Polygonum chinense</i> (火炭母草)
			<i>Myzus hemerocallis</i>	1080-81	Taichung City, Wufeng Dist.; 29 Mar 2005	<i>Hemerocallis fulva</i> (金針花)
			<i>Myzus persicae</i>	162-5	Taichung City, NCHU; 1 Nov 2004	<i>Raphanus sativus</i> (蘿蔔)
			<i>Myzus persicae</i>	28037-63	Nantou Co., Caotun; 28 Apr 2011	<i>Asparagus officinalis</i> (蘆筍)
			<i>Myzus varians</i>	10043-47	Taichung City, NCHU; 3 Jun 2008	<i>Clematis grata</i> (串鼻龍)
			<i>Neocyrtosiphon holsti</i>	2087-88	Taichung City, Heping Dist., Hsuehshan; 29 May 2009	<i>Rhododendron morii</i> (森氏杜鵑)
			<i>Pentalonia nigronevosa</i>	6040-41	Taichung City, NCHU; 21 Apr 2007	<i>Musa</i> sp. (香蕉)
			<i>Sitobion ibarae</i>	4047-48	Taichung City; 9 May 2006	<i>Rosa rugosa</i> (玫瑰)
			<i>Sitobion miscanthi</i>	14046-72	Taichung City, Dali Dist.; 30 Nov 2011	<i>Heliotropium indicum</i> (狗尾草)
			<i>Uroleucon formosanum</i>	126-7	Taichung City, Wufeng Dist.; 1 Mar 2004	<i>Lactuca</i> sp. (A 菜)
			<i>Uroleucon formosanum</i>	5001-16	Taichung City, Wufeng Dist.; 8 Dec 2005	<i>Pterocypselia indica</i> (鵝仔草)
Aphidinae	Aphidini	Aphidina	<i>Aphis craccivora</i>	116	Taichung City, Wufeng Dist.; 18 Jul 2003	<i>Arachis hypogaea</i> (花生)
			<i>Aphis gossypii</i>	155	Taichung City, Wufeng Dist.; 25 Mar 2005	<i>Colocasia esculenta</i> (芋頭)
			<i>Aphis kurosawai</i>	9073-75	Tainan City, Annan Dist.; 24 Mar 2008	<i>Artemisia indica</i> (艾草)
			<i>Toxoptera citricida</i>	156-7	Taichung City, Wufeng Dist.; 25 Mar 2005	<i>Citrus</i> sp. (柑橘)
Aphidinae	Aphidini	Rhopalosiphina	<i>Melanaphis sacchari</i>	4052	Taichung City, Wufeng Dist.; 23 Nov 2005	<i>Saccharum</i> sp. (甘蔗)
			<i>Rhopalosiphum nymphaeae</i>	7070-75	Pingtung Co.; 25 Oct 2007	<i>Nymphaea tetragona</i> (睡蓮)
			<i>Rhopalosiphum padi</i>	140-1	Taichung City, NCHU; 28 Dec 2004	<i>Oryza sativa</i> (水稻)

Except *Acyrtosiphon kondoi* (大陸稱苜蓿無網長管蚜), Chinese name of the other aphids as followed by Tao (1990): *Ac. pisum* (豌豆蚜), *Adelges tsugae* (鐵杉球蚜), *Aiceona actinodaphni* (樟楠蚜), *Ai. osugii* (大杉氏蚜), *Aphis craccivora* (黑豆蚜), *Ap. gossypii* (棉蚜), *Ap. kurosawai* (艾草蚜), *Aulacorthum nipponicum* (雞屎藤蚜), *Brevicoryne brassicae* (菜蚜), *Capitophorus formosartemisiae* (艾草釘毛蚜), *C. hippophaes* (胡藜釘毛蚜), *Cavariella salicicola* (柳雙尾蚜), *Formosaphis micheliae* (玉蘭幹綿蚜), *Greenidea formosana* (番石榴毛管蚜), *Hyperomyzus carduelinus* (等管尾蚜), *Indomegoura indica* (黃花粉蚜), *Lipaphis erysimi* (偽菜蚜), *Melanaphis sacchari* (高粱蚜), *Mollitrichosiphum taiwanum* (清風藤毛管蚜), *Myzus formosanus* (蓼蚜), *M. hemerocallis* (金針瘤蚜), *M. persicae* (桃蚜), *M. varians* (桃捲葉蚜), *Neocyrtosiphon holsti* (霍氏杜鵑蚜), *Neophyllaphis podocarpi* (羅漢松蚜), *Pentalonia nigronevosa* (香蕉交脈蚜), *Periphyllus koelreuteriae* (樂樹圓尾蚜), *Rhopalosiphum nymphaeae* (蓮薇蚜), *R. padi* (稻麥蚜), *Sitobion ibarae* (月季蚜), *S. miscanthi* (萱草蚜), *Toxoptera citricida* (大桔蚜), *Uroleucon formosanum* (白尾紅蚜).

表二 本研究所使用分子特徵之增幅引子及序列長度

Table 2. Primer sets and sequence length of the molecular characteristics used in this study

Molecular characteristic	Primer set (sense & antisense)	Sequence length (bp)	Reference
Endosymbiont			
<i>Buchnera aphidicola</i> 16S rDNA	16SA1 & 16SB1	1,500	Fukatsu and Nikoh (2000)
	10F & 1507R	1,500	Sandström <i>et al.</i> (2001)
Mitochondrial DNA			
Cytochrome Oxidase I (DNA Barcoding)	LCO1490 & HCO2198	700	Hebert <i>et al.</i> (2003)
	LepF & LepR	650	Hajibabaei <i>et al.</i> (2005)
Cytochrome Oxidase I (downstream)	COI-L & COIa-H	680	Stechmann and Schlegel (1999)
	COIU670A & COID1280A	630	modified form Shen (2006)
Leucine tRNA / Cytochrome Oxidase II	CI-J-2793 & CII-N-3661	900	Shingleton and Stern (2003)
	2993+ & A3772	760	von Dohlen <i>et al.</i> (2002)
Nuclear DNA			
Elongation Factor 1 $\alpha$	EF3 & EF6	1,100	von Dohlen <i>et al.</i> (2002)

表三 本研究所使用分子特徵 (各段及合併資料組) 之基本資訊

Table 3. Information for the four individuals and the combined molecular characteristics used in this study

Alignment data set	No. of taxa	No. of characteristics		Nucleotide composition (A : T : C : G)	Ti/Tv bias <sup>2)</sup> (R)	Mean distance (uncorrected)	jModel test	
		Total	Gblock <sup>1)</sup>				AIC <sup>3)</sup>	BIC <sup>4)</sup>
<i>Buchnera</i> 16S rDNA	39	1,581	1,326	29.45 : 21.03 : 21.02 : 28.50	1.85	0.035	GTR + I + $\Gamma$	GTR + I + $\Gamma$
COI	39	1,392	1,166	34.53 : 41.05 : 13.46 : 10.95	5.77	0.077	GTR + I + $\Gamma$	TIM2 + I + $\Gamma$
COII	39	1,017	570	40.27 : 40.34 : 12.3 : 7.03	1.66	0.080	GTR + I + $\Gamma$	TIM2 + I + $\Gamma$
EF1- $\alpha$	39	1,227	673	29.25 : 25.29 : 20.65 : 24.77	2.02	0.075	GTR + I + $\Gamma$	SYM + I + $\Gamma$
Combined	39	-	3,735	32.66 : 30.98 : 17.26 : 19.09	1.38	0.060	GTR + I + $\Gamma$	GTR + I + $\Gamma$

<sup>1)</sup> The poorly aligned positions and divergent regions of the alignment were eliminated using Gblock software.

<sup>2)</sup> Ti, Transition; Tv, Transversion.

<sup>3)</sup> AIC, Akaike's information criterion.

<sup>4)</sup> BIC, Bayesian information criterion.

rDNA、蚜蟲粒線體基因之 DNA Barcoding COI、COI 下游、COII 及蚜蟲染色體之 EF1- $\alpha$  進行臺灣地區 34 種蚜蟲 (包含 1 外群) 之系統發生分析。各段分子特徵及合併序列資料組之核苷酸組成、遺傳距離及最佳模型如表三所示。16S rDNA 的序列比對資料組經 Gblock 軟體將較不明確的區段刪除所得特徵數為 1,326，其中有變異的特徵數為 350 (26%)，具簡約意義之特徵數 (parsimonious

informative character) 為 199 (15%)。蚜蟲粒線體 DNA 之 COI/COII 區域之 Gblock 特徵數分別為 620、546、570，其中有變異的特徵數分別為 232 (37%)、224 (41%)、226 (40%)，具簡約意義之特徵數分別為 195 (31%)、152 (28%)、167 (29%)。蚜蟲染色體基因 EF1- $\alpha$  之 Gblock 特徵數為 673，其中有變異的特徵數為 202 (30%)，具簡約意義之特徵數為 155 (23%)。不論是變異數或最簡資



訊，其佔序列比對資料組之百分比皆為蚜蟲粒線體 DNA > 蚜蟲染色體 DNA > 初級共生菌核糖體 DNA。四段分子特徵合併序列資料組之特徵數為 3,735，其中有變異的特徵數為 1,234 (33%)，具簡約意義之特徵數為 868 (23%)。

各段及合併的分子特徵鹼基取代率之最佳模型如表三所示，依此進一步運算其轉換 (transition) 與倒換 (transversion) 比值 (R) 皆 > 0.5，顯示各段分子特徵持續演化尚未飽和 (Hsu *et al.*, 2010)。核苷酸組成可發現蚜蟲粒線體之 COI、COII 皆為 AT rich (分別為 75.58%、80.61% AT)，而蚜蟲初級內共生菌 (*Buchnera aphidicola*) 之 16S rDNA 為 50.48% AT、49.52% GC，蚜蟲染色體基因 EF1- $\alpha$  為 54.54% AT、45.42% GC，僅 AT 些微高於 GC (表三)。另外以 P 距離模式 (p-distance model) 計算全部分類群之平均未校正遺傳距離 (uncorrected genetic distance)，其顯示各段分子特徵的遺傳差異為蚜蟲粒線體 DNA > 蚜蟲染色體 DNA > 初級共生菌核糖體 DNA，合併序列資料組之平均遺傳距離為 0.06，最小為蓼蚜 (*Myzus formosanus*) 及桃捲葉蚜 (*M. varians*) 之 0.008、最大為樟楠蚜 (*Aiceona actinodaphni*) 及玉蘭幹綿蚜 (*Formosaphis micheliae*) 之 0.104。

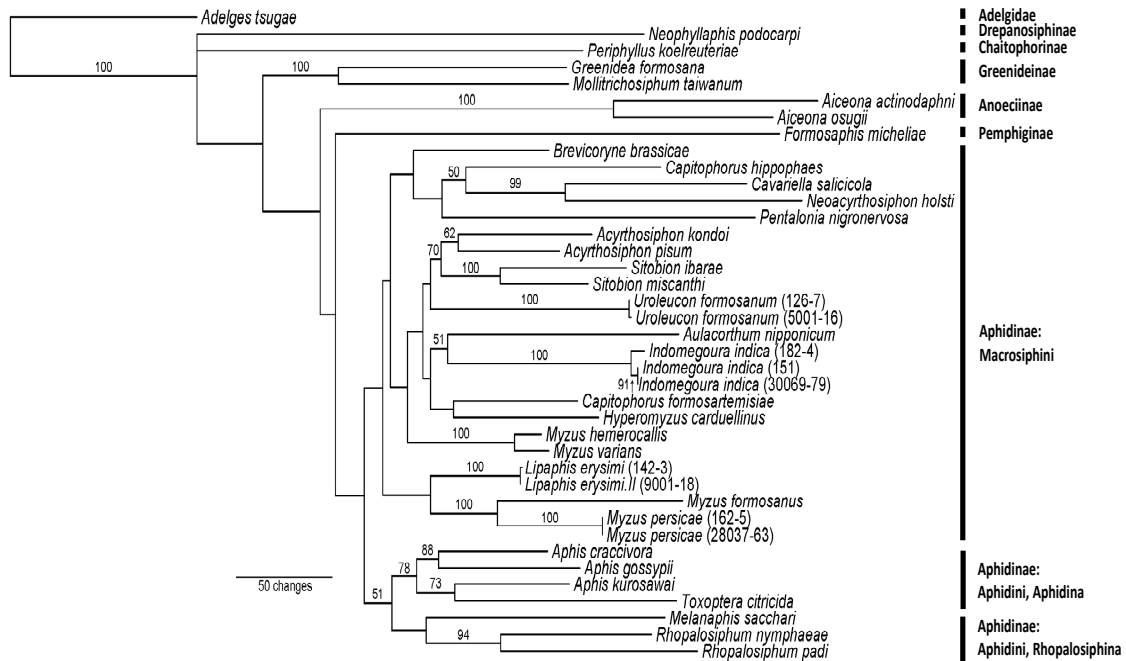
最大簡約分析四段分子特徵 (16S rDNA、COI、COII 及 EF1- $\alpha$ ) 合併序列資料組，根據 868 個具最簡約資訊的特徵，以啟發式搜尋到 2 個支序圖，嚴格共同樹如圖一所示。簡約樹長表示核苷酸改變次數為 4,353，一致性指數 (consistency index, CI) 為 0.3715、保存性指數 (retention index, RI) 為 0.4528、重新調整一致性指數 (rescaled consistency index, RC) 為 0.1682。斑蚜亞科的羅漢松蚜 (*Neophyllaphis podocarpi*)

及毛蚜亞科的樂樹圓尾蚜 (*Periphyllus koelreuteriae*) 之關係不明確，但皆位在系統樹之基部。其中毛管蚜亞科及短痣蚜亞科為高拔靴支持度的單系群 (monophyly)。常蚜亞科之族及亞族分群與形態分類一致，常蚜族與網管蚜族互為姊妹群，然分群枝條不具支持度。常蚜族下常蚜亞族為單系群 (bootstrap value = 78)，其與縊管蚜亞族互為姊妹群，分群支持度卻不高 (bootstrap value = 51)。在長管蚜亞族中，凹頭蚜屬 (*Myzus*) 及釘毛蚜屬 (*Capitophorus*) 為多系群 (polyphyly)。

貝氏推論分析所得的 50% 多數決共同樹 (50% majority rule consensus tree) 如圖二所示，其樹型與最大簡約系統樹略有不同：(1) 斑蚜亞科為位於最基部之支系，毛蚜亞科次之，並具有高支持度；(2) 綿癭蚜亞科的玉蘭幹綿蚜 (*Formosaphis micheliae*) 與毛管蚜亞科為姊妹群，並較短痣蚜亞科位於基部；(3) 長管蚜族之菜蚜 (*Brevicoryne brassicae*) 與偽菜蚜 (*Lipaphis erysimi*) 及部分凹頭蚜屬為一單系群，並具高支持度。雞屎藤蚜 (*Aulacorthum nipponicum*)、艾草釘毛蚜 (*Capitophorus formosartemisiae*)、等管尾蚜 (*Hyperomyzus carduellinus*)、香蕉交脈蚜 (*Pentalonia nigronervosa*) 之親緣關係仍未明確。其他分群則與最大簡約系統樹並無二致。

## 討 論

臺灣地區的蚜蟲使用的 Blackman and Eastop (1994) 分類系統為常蚜總科之 3 科 11 亞科，本研究呈現出常蚜總科之 2 科 7 亞科 34 種之親緣關係。由於我們所採樣的大蚜亞科及群蚜亞科的蚜蟲樣本，無法得到四段分子特徵，故未被納入分析，且可能因為合併蚜蟲



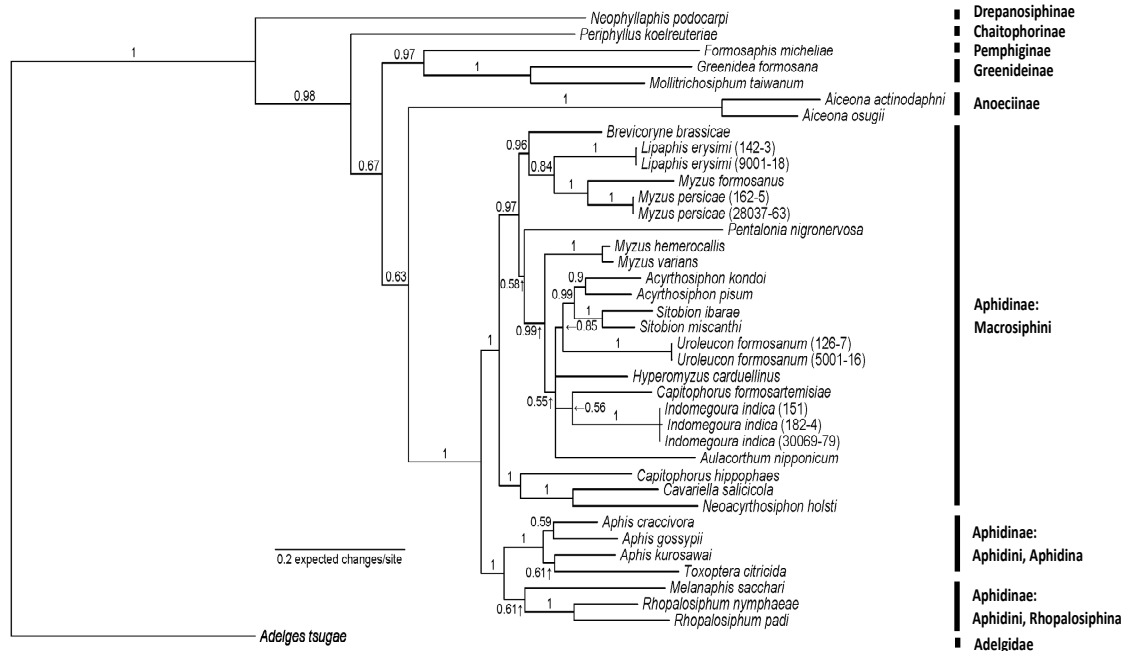
圖一 最大簡約分析常蚜總科之 2 科 7 亞科 34 種之嚴格共同樹。枝條支持度為重複 1,000 次測試之拔靴值 (小於 50% 則未顯示)。

Fig. 1. Strict consensus tree of 2 equally parsimonious trees for two families, seven subfamilies, and 34 species of Aphidoidea. The numbers above the branches indicate the bootstrap support (values below 50% are not shown) with 1,000 replicates test.

初級內共生菌 16S rDNA 的核苷酸變異及具簡約意義之特徵數不足，及扁蚜亞科的環體扁蚜族 (或稱堅扁蚜族、*Cerataphidini*) 並無蚜蟲初級內共生菌，其內共生菌為類酵母菌 (Fukatsu and Ishikawa, 1996)，或除了常蚜亞科外之各亞科樣本較少，都是可能影響本研究所用的四段分子特徵對蚜蟲高階的分群與前人研究結果有差異的原因。

Zhang *et al.* (1999) 利用 12 個形態特徵及 4 個生活史特徵建構蚜蟲 13 亞科系統發生樹，其結果為扁蚜亞科與綿癭蚜亞科、短痣蚜亞科與大蚜亞科、毛蚜亞科與常蚜亞科分別為姊妹群，由系統樹基部之球蚜科、根瘤蚜科、平翅綿蚜亞科、扁蚜亞科與綿癭蚜亞科、群蚜

亞科、續蚜亞科至末端之單系群 (包含毛管蚜亞科、斑蚜亞科、短痣蚜亞科與大蚜亞科、毛蚜亞科與常蚜亞科)。Heie and Wegierek (2009) 加入蚜蟲化石重建常蚜總科之系統發生，球蚜科、根瘤蚜科及常蚜科為其分類系統 8 科中現存的蚜蟲。球蚜科與根瘤蚜科、大蚜亞科與常蚜亞科、毛管蚜亞科與偽短痣蚜亞科 (*Aiceoninae*)、群蚜亞科與 *Tamaliinae* (或稱塔葉蚜亞科)、榆樹綿蚜亞科 (*Eriosomatinae*) 與短痣蚜亞科分別為姊妹群，在常蚜科中分成 2 大群：一為位於較基部之扁蚜亞科、榆樹綿蚜亞科與短痣蚜亞科，其餘 7 亞科為一群。其中斑蚜亞科下又分為 14 個族，包括毛蚜族 (*Chaitophorini*)。然而單獨利用蚜蟲的長波長



圖二 以 MyBayes 軟體所得到的貝氏 50% 多數決共同樹，顯示出常蚜總科之 2 科 7 亞科 34 種之親緣關係。枝條支持度以貝氏推論之事後機率表示。

Fig. 2. Bayesian 50% majority rule consensus tree as inferred by MrBayes showing phylogenetic relationships among two families, seven subfamilies, and 34 species of Aphidoidea. The numbers above the branches indicate the posterior probabilities of the Bayesian inference analysis.

視蛋白基因 (long-wavelength opsin gene) 或合併其他分子特徵，其所建構出常蚜科的系統發生，發現大蚜亞科並非和以往所認知的與常蚜亞科互為姐妹群，而是位於更基部的一分支，暗指大蚜亞科為現代取食針葉樹蚜蟲的古老種類 (Ortiz-Rivas *et al.*, 2004; Ortiz-Rivas and Martínez-Torres, 2010; Ren *et al.*, 2013)。

在最大簡約系統樹及貝氏推論系統樹中，發現網管蚜族之凹頭蚜屬 (*Myzus*) 及釘毛蚜屬 (*Capitophorus*) 為多系群 (polophyly)。Nováková *et al.* (2013) 以蚜蟲初級內共生菌的 16S rDNA、*groEL*、*trpB*、*dnaB* 及 *ilvDI* 基因所建構的常蚜科系統發生樹中，胡蓼釘毛

蚜 (*Capitophorus hippophaes*) 與翅斑蚜族 (Pterocommatini) 的 *Pterocomma smithiae* 為姊妹群。Lee *et al.* (2011a) 自 COI、COII、12S/16S rDNA 及 EF1- $\alpha$  之系統樹中發現 *Aulacorthum magnoliae* 及雞屎藤蚜 (*Au. nipponicum*) 為單系群，並未與其他粗額蚜屬蚜蟲與光額蚜屬 (*Acyrtosiphon*) 位於末端之單系群內，且形態特徵亦有別於其他粗額蚜屬蚜蟲，故建立一新屬為新粗額蚜屬 (*Neoaulacorthum*)。由本研究的系統樹亦可發現雞屎藤蚜相對於光額蚜屬為較基部之支系 (圖二) 或分屬於不同單系群 (圖一)，該結果亦支持將雞屎藤蚜由粗額蚜屬移至新粗額蚜屬。

## 引用文獻

- Baker AC.** 1920. Generic classification of the hemipterous family Aphididae. Washington, D. C.: US Department of Agriculture. 109 pp.
- Börner C.** 1930. Beiträge zu einem neuen System der Blattläuse. Arch Klassifikator Phylogenet Entomol 1: 115-194. (in German)
- Castresana J.** 2000. Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. Mol Biol Evol 17: 540-522.
- Chen CY, Chiu MC, Kuo MH.** 2013. Effect of warming with temperature oscillations on a low-latitude aphid, *Aphis craccivora*. Bull Entomol Res 103: 406-413.
- Coeur d'acier A, Jousselin E, Martin JF, Rasplus JY.** 2007. Phylogeny of the Genus *Aphis* Linnaeus, 1758 (Homoptera: Aphididae) inferred from mitochondrial DNA sequences. Mol Phylogenet Evol 42: 598-611.
- Coeur d'acier A, Cocuzza G, Jousselin E, Cavalieri V, Barbagallo S.** 2008. Molecular phylogeny and systematic in the genus *Brachycaudus* (Homoptera: Aphididae): insights from a combined analysis of nuclear and mitochondrial genes. Zool Scr 37: 175-193.
- Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D.** 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. Nat Methods 9: 772.
- Footit RG, Maw HEL, von Dohlen CD, Hebert PDN.** 2008. Species identification of aphids (Insecta: Hemiptera: Aphididae) through DNA barcodes. Mol Ecol Resour 8: 1189-1201.
- Fukatsu T, Ishikawa H.** 1996. Phylogenetic position of yeast-like symbiont of *Hamiltonaphis styraci* (Homoptera, Aphididae) based on 18S rDNA sequence. Insect Biochem Mol Biol 26: 383-388.
- Fukatsu T, Nikoh N.** 2000. Endosymbiotic microbiota of the bamboo pseudococcid *Antonina crawii* (Insecta, Homoptera). Appl Environ Microbiol 66: 643-650.
- Funk DJ, Helbling L, Wernegreen JJ, Moran NA.** 2000. Intraspecific phylogenetic congruence among multiple symbiont genomes. Proc Biol Sci 267: 2517-2521.
- Hajibabaei M, deWaard JR, Ivanova NV, Ratnasingham S, Dooh RT, Kirk SL, Mackie PM, Hebert PDN.** 2005. Critical factors for assembling a high volume of DNA barcodes. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci 360: 1959-1967.
- Hansen A, Moran NA.** 2014. The impact of microbial symbionts on host plant utilization by herbivorous insects. Mol Ecol 23: 1473-1496.
- Havill NP, Footit RG, von Dohlen CD.** 2007. Evolution of host specialization in the Adelgidae (Insecta: Hemiptera) inferred from molecular phylogenetics. Mol Phylogenet Evol 44: 357-370.
- Havill NP, Montgomery ME, Yu G, Shiyake S, Caccione A.** 2006. Mitochondrial

- DNA from hemlock woolly adelgid (Hemiptera: Adelgidae) suggests cryptic speciation and pinpoints the source of the introduction to eastern North America. *Ann Entomol Soc Am* 99: 195-203.
- Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR.** 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc Biol Sci* 270: 313-321.
- Heie OE.** 1980. The Aphidoidea (Hemiptera) of Fennoscandia and Denmark. I. General Part. The Families Mindaridae, Hormaphididae, Thelaxidae, Anoeciidae, and Pemphigidae. Klampenborg: Scandinavian Science Press. 236 pp.
- Heie OE, Wegierek P.** 2009. A classification of the Aphidomorpha (Hemiptera: Sternorrhyncha) under consideration of the fossil taxa. *Redia* 92: 69-77. (in Abstract)
- Hsu KM, Tsai JL, Chen MY.** 2010. Phylogenetic Relationship of the Genus *Dioscorea* L. (Dioscoreaceae) of Taiwan. *Taiwan J Biodivers* 12: 291-302. (in Chinese)
- Huelsenbeck JP, Ronquist F.** 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17: 754-755.
- Knudsen B, Knudsen T, Flensburg M, Sandmann H, Heltzen M, Andersen A, Dickenson M, Bardram J, Steffensen PJ, Mønsted S, Lauritzen T, Forsberg R, Thanbichler A, Bendtsen JD, Görlitz L, Rasmussen J, Tordrup D, Værum M, Ravn MN, Hachenberg C, Fisker E, Dekker P, Meza Jd, Hein A-MK, Sinding JB, Quorning J, Hvam K, Mikkelsen S, Liboriussen P, Grydholt J, Handberg H, Bundgaard M, Joecker A, Simonsen M, Nielsen PRL, Joecker A, Fleischer P, Jakobsen J, Juul S, Appelt U, Fejes A.** 2008. CLC DNA Workbench 6.6.1 (<http://www.clcbio.com>).
- Lee W, Kim H, Lee S.** 2011a. A new aphid genus *Neoaulacorthum* (Hemiptera: Aphididae: Macrosiphini), determined by molecular and morphometric analyses. *Bull Entomol Res* 101: 115-123.
- Lee W, Kim H, Lim J, Choi HR, Kim Y, Kim YS, Ji JY, Footitt RG, Lee S.** 2011b. Barcoding aphids (Hemiptera: Aphididae) of the Korean Peninsula: updating the global data set. *Mol Ecol Resour* 11: 32-37.
- Linnaeus C.** 1758. *Systema naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis.* 10 (reformata) ed. Holmiae: impensis Laurentii Salvii. 824 pp. (in Latin)
- Liu LIN, Huang X, Zhang R, Jiang L, Qiao G.** 2013. Phylogenetic congruence between *Mollitrichosiphum* (Aphididae: Greenideinae) and *Buchnera* indicates insect-bacteria parallel evolution. *Syst Entomol* 38: 81-92.
- Lozier JD, Roderick GK, Mills NJ.** 2007. Genetic evidence from mitochondrial,

- nuclear, and endosymbiont markers for the evolution of host plant associated species in the aphid genus *Hyalopterus* (Hemiptera: Aphididae). *Evolution* 61: 1353-1367.
- Martínez-Torres D, Buades C, Latorre A, Moya A.** 2001. Molecular systematics of aphids and their primary endosymbionts. *Mol Phylogenet Evol* 20: 437-449.
- Nováková E, Hypša V, Klein J, Footitt RG, Dohlen CDv, Moran NA.** 2013. Reconstructing the phylogeny of aphids (Hemiptera: Aphididae) using DNA of the obligate symbiont *Buchnera aphidicola*. *Mol Phylogenet Evol* 68: 42-54.
- Ogawa K, Miura T.** 2014. Aphid polyphenisms: trans-generational developmental regulation through viviparity. *Frontiers in Physiology* [Internet]. 2014 5: 1-11. Available from: doi: 10.3389/fphys.2014.00001
- Ortiz-Rivas B, Martínez-Torres D.** 2010. Combination of molecular data support the existence of three main lineages in the phylogeny of aphids (Hemiptera: Aphididae) and the basal position of the subfamily Lachninae. *Mol Phylogenet Evol* 55: 305-317.
- Ortiz-Rivas B, Moya A, Martínez-Torres D.** 2004. Molecular systematics of aphids (Homoptera: Aphididae): new insights from the long-wavelength opsin gene. *Mol Phylogenet Evol* 24: 24-37.
- Rebijith KB, Asokan R, Kumar NKK, Krishna V, Chaitanya BN, Ramamurthy VV.** 2013. DNA barcoding and elucidation of cryptic aphid species (Hemiptera: Aphididae) in India. *Bull Entomol Res* 103: 601-610.
- Remaudière G, Remaudière M.** 1997. *Catalogue des Aphididae du Monde*. Paris: Institut National de la Recherche Agronomique. 473 pp. (in French)
- Ren Z, Zhong Y, Kurosu U, Aoki S, Ma E, von Dohlen CD, Wen J.** 2013. Historical biogeography of Eastern Asian-Eastern North American disjunct Melaphidina aphids (Hemiptera: Aphididae: Eriosomatinae) on *Rhus* hosts (Anacardiaceae). *Mol Phylogenet Evol* 69: 1146-1158.
- Ronquist F, Huelsenbeck JP.** 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.
- Sandström JP, Russell JA, White JP, Moran NA.** 2001. Independent origins and horizontal transfer of bacterial symbionts of aphids. *Mol Ecol* 10: 217-228.
- Sanger F, Nicklen S, Coulson AR.** 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 74: 5463-5467.
- Shen CC.** 2006. Phylogenetic relationships of psyllids based on mitochondrial COI gene and primary endosymbionts 16S rDNA [Master's thesis]. Taichung, Taiwan: National Chung Hsing University. 71 pp. (in Chinese)

- Shingleton AW, Stern DL.** 2003. Molecular phylogenetic evidence for multiple gains or losses of ant mutualism within the aphid genus *Chaitophorus*. *Mol Phylogenet Evol* 26: 26-35.
- Stechmann A, Schlegel M.** 1999. Analysis of the complete mitochondrial DNA sequence of the brachiopod *Terebratulina retusa* places Brachiopoda within the protostomes. *Proc Biol Sci* 266: 2043-2052.
- Stern DL.** 1994. A phylogenetic analysis of soldier evolution in the aphid family Hormaphididae. *Proc Biol Sci* 256: 203-209.
- Swofford DL.** 2003. PAUP\* 4.0: phylogenetic analysis using parsimony (and other methods). Ver. 4.0b10. Sunderland, MA, USA: Sinauer Associates.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipowski A, Kumar S.** 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol Biol Evol* 30: 2725-2729.
- Tao CC.** 1990. Aphid-Fauna of Taiwan Province, China. Taipei: Taiwan Provincial Museum. 327 pp. (in Traditional Chinese)
- Tao CC.** 1999. List of Aphidoidea (Homoptera) of China. Taichung, Taiwan. R.O.C.: Taiwan Agricultural Research Institute. 144 pp.
- von Dohlen CD, Moran NA.** 2000. Molecular data support a rapid radiation of aphids in the Cretaceous and multiple origins of host alternation. *Biol J Linn Soc Lond* 71: 689-717.
- von Dohlen CD, Kurosu U, Aoki S.** 2002. Phylogenetics and evolution of the eastern Asian-eastern North American disjunct aphid tribe, Hormaphidini (Hemiptera: Aphididae). *Mol Phylogenet Evol* 23: 257-267.
- von Dohlen CD, Spaulding U, Shields K, Havill NP, Rosa C, Hoover K.** 2013. Diversity of proteobacterial endosymbionts in hemlock woolly adelgid (*Adelges tsugae*) (Hemiptera: Adelgidae) from its native and introduced range. *Environ Microbiol.* 15: 2043-2062.
- Yao I.** 2014. Costs and constraints in aphid-ant mutualism. *Ecol Res* 29: 383-391.
- Zhang GX, Chen XL, Qiao GX, Zhong TS, Li JH.** 1999. Fauna of Agricultural and Forestry Aphids of Northwest, China (Insecta, Homoptera, Aphidinea). Beijing: China Environmental Science Press. 563 pp. (in Chinese)
- Zhang HC, Qiao GX.** 2006. Application of gene sequences in molecular phylogenetic study on Aphididae (Hemiptera). *Acta Entomol Sin* 49: 521-527. (in Chinese)
- Žurovcová M, Havelka J, Starý P, Věchtová P, Chundelová D, Jarošová A, Kučerová L.** 2010. "DNA barcoding" is of limited value for identifying adelgids (Hemiptera: Adelgidae) but supports traditional morphological taxonomy. *Eur J Entomol* 107: 147-156.

收件日期：2014年6月10日

接受日期：2014年7月3日

# Phylogeny of Aphids (Hemiptera: Aphidoidea) in Taiwan Based on the Combined Molecular Characteristics of the Aphid and its Primary Endosymbiont

Chia-Yu Chen, and Mei-Hwa Kuo\*

Department of Entomology, National Chung Hsing University, 250 Kuokuang Road, Taichung City 40227, Taiwan

## ABSTRACT

The three families of aphids (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aphidoidea) from Taiwan are divided into 11 subfamilies. This study presents the higher-level phylogenetic relationships among 6 subfamilies and 33 species, excluding the outgroup *Adelges tsugae* (Adelgidae), using a combined molecular dataset (16S ribosome DNA of *Buchnera aphidicola*, DNA Barcoding cytochrome oxidase I and downstream, cytochrome oxidase II, elongation factor 1- $\alpha$  sequences). The maximum parsimony and Bayesian phylogenetic analysis revealed that the higher-level relationships among Aphididae were different from previous morphological or molecular classifications. Drepanosiphinae are on the basal clade, rather than in the monophyletic group with Aphidinae. Analyses supported the monophyly of Aphidini and its subtribes, Aphidina and Rhopalosiphina. Macrosiphini were also monophyletic. Our findings of the relative relationship of *Aulacorthum nipponicum* and *Acyrtosiphon* spp. on our phylogenetic trees, supports moving *Au. nipponicum* from *Aulacorthum* to the new genus *Neaulacorthum*.

**Key words:** *Buchnera aphidicola*, Adelgidae, maximum parsimony, Bayesian inference, DNA barcoding

\* Corresponding email: mhkuo@dragon.nchu.edu.tw