

北京和湖南烟粉虱生物型及其抗药性监测^{*}

王少丽 张友军^{**} 李如美 吴青君 徐宝云

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所 北京 100081)

摘要 烟粉虱是蔬菜等园艺作物上为害严重、最难以防治的害虫之一,生产上防治该虫主要还是依靠化学药剂。本研究鉴定了北京、湖南地区设施蔬菜上烟粉虱的生物型,并监测了其对6种不同杀虫剂的抗药性。结果表明,北京、湖南地区蔬菜烟粉虱生物型分别是Q型和B型。两地烟粉虱对阿维菌素尚处于敏感状态;对烯啶虫胺及其他烟碱类杀虫剂噻虫嗪和吡虫啉的抗药性达中抗到高抗水平,湖南地区抗性水平比北京地区更高,抗性倍数最高达到71.58倍;传统杀虫剂毒死蜱和联苯菊酯对湖南、北京两地烟粉虱的毒杀活性差。

关键词 北京,湖南,烟粉虱,生物型,抗药性

Biotype and resistance status of whitefly *Bemisia tabaci* in Beijing and Hunan areas

WANG Shao-Li ZHANG You-Jun^{**} LI Ru-Mei WU Qing-Jun XU Bao-Yun

(Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract The whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) is one of the most important and difficult to control insect pests of vegetables and ornamental crops. Insecticides are still the most common control method for these pests. The resistance of different *B. tabaci* biotypes from Beijing and Hunan to 6 insecticides was investigated. The results showed that *B. tabaci* from these regions were of the Q and B biotypes. Insects from both areas were still susceptible to abamectin but had moderate to high resistance to nitenpyram and other neonicotinoid insecticides, including thiamethoxam and imidacloprid. The degree of resistance was much higher in Hunan than in Beijing, with the highest recorded resistance being 71.58-fold. Traditional insecticides including chlorpyrifos and bifenthrin showed low toxicity activity for *B. tabaci* adults.

Key words Beijing, Hunan, *Bemisia tabaci*, biotype, insecticide resistance

烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius) 是一种世界性的农业害虫,其造成的严重经济为害引起了全球关注。烟粉虱在我国最早记载于1949年(周尧,1949),但过去种群数量低,危害不严重,一直以来不是我国的主要经济害虫。从20世纪90年代以来,烟粉虱在我国的广东、北京、河北、天津、山东等地相继暴发,造成了严重的经济损失,成为我国蔬菜、花卉等作物上的主要害虫之一(陈连根,1997;罗晨和张芝利,2000;Ren *et al.*, 2001;褚栋等,2005;Zhang *et al.*, 2005)。烟粉虱主要通过成虫、若虫取食植物汁液和成虫传播植物病毒病对寄主植物造成严重为害,尤其是后者,给农业生产带来的巨大的经济损失,近年来在我国流

行蔓延、导致局部地区番茄大棚绝收的番茄黄化曲叶病毒病即为烟粉虱携带传播的双生病毒所致(Wu *et al.*, 2006)。

化学防治在烟粉虱的综合防治系统中占据重要地位,但不同地区存在用药习惯和防治对象的差异,致使烟粉虱对不同杀虫剂产生了不同程度的抗药性。而烟粉虱又是一个处于快速进化的复合种(species complex),其中B型和Q型是其重要的两个生物型,二者之间存在许多生物学特性等方面的差异,如寄主适合性(Muniz, 2000)、杀虫剂抗药性(Horowitz *et al.*, 2003)、传播植物病毒病能力(Valverde *et al.*, 2004)等。2003年以前在我国发生为害的生物型主要是B型,最近研究发

^{*} 资助项目:公益性行业(农业)科研专项(200803005和200903033)。

^{**} 通讯作者, E-mail: zhangyj@mail.caas.net.cn

收稿日期:2010-12-23,接受日期:2010-01-07

现,北京和河北局部地区 Q 型烟粉虱已经取代了 B 型烟粉虱,成为优势为害生物型(潘慧鹏等, 2010)。基于不同生物型烟粉虱对杀虫剂的抗药性存在差异,生物型监测和抗药性监测是烟粉虱综合防治的前提和基础。

本研究在对北京、湖南两地的设施蔬菜烟粉虱的生物型进行鉴定的基础上,测定了其 6 种不同杀虫剂的抗药性,为指导当地烟粉虱的化学防治提供了科学依据。

1 材料与方法

1.1 烟粉虱试虫

烟粉虱成虫分别于 2010 年度夏季采集于北京海淀区中国农业科学院蔬菜花卉研究所试验基地番茄大棚(命名为 BJHD)和湖南长沙地区湖南植物保护研究所基地的黄瓜大棚(命名为 HNCS),烟粉虱试虫即采即用。相对敏感种群为中国农业科学院蔬菜花卉研究所实验室于 2000 年采自试验基地的甘蓝寄主上,室内于无虫苗甘蓝(*Brassica oleracea* L. var. *capitata*)寄主上饲养至今,从未接触过任何杀虫药剂。采集时基于 mt COI 基因序列,根据罗晨等(2002)方法鉴定其生物型为 B 型,命名为 SS 种群。

1.2 供试杀虫剂

供试杀虫剂均采用制剂。1.8% 阿维菌素乳油(北京中农大生物技术股份有限公司产品)、10% 联苯菊酯乳油(苏州富美实植物保护剂有限公司产品)、10% 烯啶虫胺水剂(北京三浦百草绿色植物制剂有限公司产品)、20% 吡虫啉可溶液剂(拜耳作物科学有限公司产品)、25% 噻虫嗪水分散粒剂(瑞士先正达作物保护有限公司产品)和 48% 毒死蜱乳油(美国陶氏益农公司产品)。

1.3 主要试剂

基因组 DNA 提取试剂盒、PCR 产物回收纯化试剂盒均购自北京百泰克生物技术有限公司;Taq 酶购自北京六合通经贸有限公司(TAKARA 产品);dNTPs、蛋白酶 K, RNAase、DNA 标准分子量 Marker 等均购自天根生化科技(北京)有限公司。扩增引物序列由上海生工生物工程公司合成。

1.4 田间烟粉虱生物型鉴定

烟粉虱成虫生物型鉴定方法参考的引物扩增方法(Shatters *et al.*, 2009)。Q 型烟粉虱的 PCR 扩增特异性引物序列分别为 5'-CTT GGT AAC

TCT TCT GTA GAT GTG TGT T -3'和 5'-CCT TCC CGC AGA AGA AAT TTT GTT C -3';B 型烟粉虱的 PCR 扩增特异性引物序列分别为 5'-TAG GGT TTA TTG TTT GAG GTC ATC ATA TAT TC -3'和 5'-AAT ATC GAC GAG GCA TTC CCC CT -3'。PCR 扩增及电泳详见潘慧鹏等(2010)的程序和方法。

1.5 毒力测定

烟粉虱成虫对不同杀虫剂的生物测定方法参照(Feng *et al.*, 2009),稍有改进。每种供试药剂设置 7 个浓度及 1 组空白对照,每浓度设置 4 次重复,药剂配制及稀释用水为含 0.125‰ 曲拉通 X-100 的蒸馏水溶液。在指形管底部铺上 2% 的琼脂约 2 mL,将预先用打孔器打好的甘蓝圆叶片在药液中浸 10 s,晾干后正面朝琼脂平贴于管底。管口朝下,轻拍叶片让粉虱自由飞入,每管 20 (30 头,用棉塞塞入 2/3 管长。琼脂朝上使指形管倒置于(25 ± 1)℃、光周期 L:D = 14:10 的光照培养箱内,48 h 后检查各处理的死亡数和存活数。

1.6 数据分析

毒力测定结果采用 probit 软件处理系统进行数据分析,计算其 LC_{50} 值及其 95% 的置信区间、斜率及标准误。抗性倍数(RR) = 所测种群的 LC_{50} / 敏感种群的 LC_{50} 。抗性水平的评价参照刘凤沂等(2010)文中提到的抗性分级标准,抗性倍数低于 3 倍为敏感水平,3.1 ~ 5 倍属敏感性降低,5.1 ~ 10 倍为低水平抗性,10.1 ~ 40 倍为中等水平抗性,40.1 ~ 160 倍为高水平抗性,160 倍以上为极高水平抗性。

2 结果与分析

2.1 烟粉虱成虫的生物型鉴定

从北京和湖南地区采集的烟粉虱中,各自随机抽取 15 头室内进行 PCR 扩增,鉴定其生物型。北京地区分别于 1 ~ 10 号 DNA 提取液中加入 Q 型特异性引物及 PCR 混合液,而在 11 ~ 15 号中加入 B 型特异性引物及 PCR 混合液,结果见图 1。由图 1 中可以看出,1 ~ 10 号产物扩增条带约为 303 bp,与 Q 型扩增引物的产物片段相吻合,而在加入 B 型引物的 5 管 DNA 样品则未扩增出预期的 478 bp 大小的相应产物。说明北京地区供试烟粉虱生物型为 Q 型。

对于湖南长沙地区采集的黄瓜烟粉虱种群,

在 1~10 号试虫 DNA 样品中加入 B 型烟粉虱扩增引物,11~15 中加入 Q 型引物,经 PCR 扩增后电泳,结果如图 2 所示,扩增显示 1~10 号产物条带大小约为 478 bp,与 B 型引物预期扩增产物大小相符合,而在同时加入 Q 型引物的 11~15 号则没有出现预期条带。证明采自湖南长沙的烟粉虱种群的生物型为 B 型。

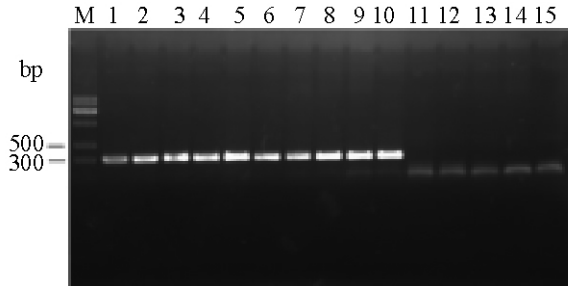


图 1 北京地区番茄大棚烟粉虱的生物型鉴定

Fig.1 Biotype identification of *B. tabaci* in tomato greenhouse from Beijing area

M:DNA Marker VII,1~10 泳道是烟粉虱 Q 型引物 PCR 扩增结果,11~15 泳道是烟粉虱 B 型引物 PCR 扩增结果。

M: DNA Marker VII, Lane 1 - 10: PCR amplification of *B. tabaci* using primers for Q biotype, Lane 11 - 15: PCR amplification of *B. tabaci* using primers for B biotype.

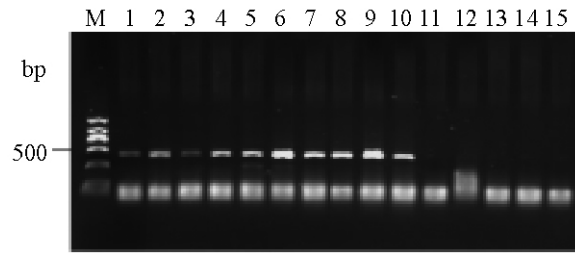


图 2 湖南长沙地区黄瓜大棚烟粉虱的生物型鉴定

Fig.2 Biotype identification of *B. tabaci* in cucumber greenhouse from Changsha, Hunan

M:DNA Marker II,1~10 泳道是烟粉虱 B 型引物 PCR 扩增结果,11~15 泳道是烟粉虱 Q 型引物 PCR 扩增结果

M: DNA Marker II, Lane 1 - 10: PCR amplification of *B. tabaci* using primers for B biotype, Lane 11 - 15: PCR amplification of *B. tabaci* using primers for Q biotype.

2.2 抗药性监测

北京、湖南两地区采集的烟粉虱种群经过成虫浸叶法室内毒力测定,结果见表 1。

从表 1 中可以看出,北京和湖南地区烟粉虱对不同杀虫剂的抗药性水平存在显著差异。仅从

表 1 北京和湖南地区烟粉虱对不同杀虫剂的抗药性监测

Table 1 Resistance to different insecticides of *B. tabaci* from Beijing and Hunan areas

杀虫剂 Insecticide	种群 Strain	斜率(±标准误) Slope(±SE)	LC ₅₀ (mg/L)(95%置信区间) LC ₅₀ (mg/L)(95% CI [*])	抗性倍数 Resistance ratio
阿维菌素	SS	2.20(±0.16)	0.30(0.24~0.39)	—
	BJHD	1.40(±0.11)	0.33(0.26~0.42)	1.10
	HNCS	1.49(±0.10)	0.06(0.05~0.08)	0.20
烯啶虫胺	SS	2.78(±0.20)	2.68(2.21~3.26)	—
	BJHD	1.10(±0.12)	43.90(30.25~63.72)	16.38
	HNCS	1.37(±0.16)	160.78(106.64~242.41)	59.99
噻虫嗪	SS	2.17(±0.21)	19.07(14.50~25.08)	—
	BJHD	1.58(±0.13)	201.76(145.95~278.91)	10.58
	HNCS	1.01(±0.09)	222.26(146.87~336.34)	11.65
吡虫啉	SS	1.12(±0.08)	8.72(6.40~11.89)	—
	BJHD	1.07(±0.10)	195.94(135.11~284.14)	22.47
	HNCS	0.89(±0.08)	624.16(382.36~1018.87)	71.58
毒死蜱	SS	2.73(±0.23)	174.10(142.14~213.25)	—
	BJHD	1.24(±0.16)	1529.02(881.33~2652.67)	8.78
	HNCS	1.25(±0.09)	516.92(386.40~691.52)	2.97
联苯菊酯	SS	1.54(±0.13)	118.12(87.71~159.07)	—
	BJHD	1.48(±0.11)	339.38(255.27~451.20)	2.87
	HNCS	1.00(±0.09)	337.43(236.77~480.88)	2.86

^{*} CI = Confidential Interval

LC₅₀值大小来看,阿维菌素对两个地区的供试烟粉虱种群毒力最高,对北京和湖南烟粉虱 LC₅₀分别为 0.33 mg/L 和 0.06 mg/L,说明北京和湖南两采集地烟粉虱种群对阿维菌素尚处于敏感状态;而烯啶虫胺对湖南烟粉虱的毒力活性(LC₅₀为 160.78 mg/L)低于北京地区烟粉虱种群(LC₅₀为 43.90 mg/L),而吡虫啉和噻虫嗪对烟粉虱成虫的致死中浓度 LC₅₀均在 195.94 mg/L 以上,毒死蜱和联苯菊酯对烟粉虱的 LC₅₀更高,毒杀活性更差。

从抗性倍数来看,供试湖南和北京地区烟粉虱种群对阿维菌素的抗性倍数最低(0.20 ~ 1.10 倍)。两地区烟粉虱种群对 3 种新型杀虫剂烯啶虫胺、噻虫嗪、吡虫啉的抗性倍数均在 10 以上,其中北京地区对上述 3 种药剂的抗性倍数在 10.58 ~ 22.47 之间,属中等水平抗性,而湖南地区烟粉虱对噻虫嗪属中等水平抗性(抗性倍数为 11.65 倍),对烯啶虫胺和吡虫啉的抗性倍数分别为 59.99 倍和 71.58 倍,达到高抗性水平。

传统的两大类杀虫剂联苯菊酯和毒死蜱对两地区烟粉虱的抗性倍数均在 10 以下,抗性分级上属于耐药水平或低抗水平,但其 LC₅₀值均较高,其中毒死蜱对北京和湖南地区烟粉虱的 LC₅₀分别为 1 529.02 mg/L 和 516.92 mg/L,这与敏感品系 SS 种群对这两种药剂的敏感度不够高有关,SS 种群对联苯菊酯和毒死蜱的 LC₅₀分别是 118.12 mg/L 和 174.10 mg/L。

3 讨论

20 世纪 90 年代以来,B 型烟粉虱入侵中国并一直作为优势种群在各地造成严重为害。2003 年在我国云南省首次发现 Q 型烟粉虱(褚栋等,2005),近两年发现北京和河北局部地区烟粉虱的生物型发生演替而成为 Q 生物型(潘慧鹏等,2010)。本研究鉴定了北京和湖南地区蔬菜田烟粉虱的生物型,发现北京地区测试的烟粉虱生物型为 Q 型,而湖南长沙地区则为 B 型。研究表明,Q 生物型烟粉虱相比 B 型等其它生物型而言,在没有药剂选择压力的情况下,其耐药性更强,抗药性更稳定(Rauch and Nauen, 2003),因此,测定明确不同地区烟粉虱的生物型对于其抗药性治理及其防治具有极大的指导意义。而北京地区的烟粉虱优势为害生物型由 B 型演替为 Q 生物型的主要原因和影响机制非常复杂,有待于进一步研究明确。

供试湖南烟粉虱种群的生物型虽然是 B 型,但是与北京地区 Q 型相比,两地区对阿维菌素均处于敏感状态,Wang 等(2010)监测了我国东南地区 12 个烟粉虱种群对不同杀虫剂的抗药性,发现此 12 个采集地的烟粉虱种群(3 个 B 型或 9 个 Q 型)对阿维菌素均属敏感水平,说明目前阿维菌素属我国大部分地区防治烟粉虱的理想药剂。

在 2000 年以前,中国防治 B 型烟粉虱主要依赖传统化学杀虫剂,如菊酯类杀虫剂,中国农业科学院蔬菜花卉研究所实验室的敏感品系是在 2000 年采集于田间并在室内继代饲养至今,如今对菊酯类杀虫剂的敏感度仍然很低,可能与在田间早已经建立起对菊酯类杀虫剂具有高水平抗药性的烟粉虱抗性种群有关(Wang *et al.*, 2010; Ma *et al.*, 2007);而与苏丹敏感烟粉虱种群(SUD-S)相比(LC₅₀为 0.26 mg/L)(马德英等,2007),北京、湖南地区烟粉虱对联苯菊酯的抗性倍数高达 1 305.31 倍和 1 297.81 倍。同时有机磷杀虫剂毒死蜱对烟粉虱的毒力活性较差,尤其是北京地区,LC₅₀达到 1 529.02 mg/L,湖南地区也达到 516.92 mg/L,虽然相对抗性倍数不高,但是致死中浓度很高。因此,在北京和湖南两采集地防治烟粉虱已不适合采用拟除虫菊酯类和有机磷类杀虫剂。

新型杀虫剂,如烟碱类杀虫剂在 2000 年以后成为我国防治烟粉虱的首选药剂。但是,连续使用必然导致烟粉虱抗药性的出现。实验室内采用吡虫啉筛选 B 型烟粉虱 30 代,抗性倍数可达约 490 倍(Wang *et al.*, 2009);当用噻虫嗪继代选育 33 代,抗性种群的抗性倍数可达 66.30 倍(Feng *et al.*, 2009),抗性发展速度较吡虫啉更慢。本研究测定发现湖南地区烟粉虱对烟碱类杀虫剂已达高抗性水平,达 71.58 倍,比北京地区更高。而烯啶虫胺于 2007 年作为防治稻飞虱的特效药上市,近年来在各地防治烟粉虱过程中应用广泛,本研究已经监测到烟粉虱对其明显的抗性,且湖南地区烟粉虱对该药的抗性(高抗)高于北京地区(中抗),可能与南方地区对其应用更早、更频繁有关。因此,生产上进行化学防治时可选择暂时少用此类杀虫剂,尤其应特别注意和其它杀虫剂、尤其是对烟粉虱卵或若虫具有良好效果的杀虫剂(如噻虫嗪等)交替或轮换使用,以达到对烟粉虱更高的控制效果,并延缓其抗药性的发展。

致谢:感谢杨鑫、铁敏媛等同学参加部分工作。

参考文献 (References)

- 陈连根, 1997. 烟粉虱在园林植物上危害及其形态变异. 上海农学院学报, 15(3): 186—189, 208.
- 褚栋, 张友军, 丛斌, 徐宝云, 吴青君, 朱国仁, 2005. 烟粉虱不同地理种群的 mtDNA COI 基因序列分析及其系统发育, 中国农业科学, 38(1): 76—85.
- Feng YT, Wu QJ, Xu BY, Wang SL, Chang XL, Xie W, Zhang YJ, 2009. Fitness costs and morphological change of laboratory-selected thiamethoxam resistance in the B-type *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *J. Appl. Entomol.*, 133(6): 466—472.
- Horowitz AR, Denholm I, Gorman K, Cenis JL, Kontsedalov S, Ishaaya I, 2003. Biotype Q of *Bemisia tabaci* identified in Israel. *Phytoparasitica*, 31(1): 94—98.
- 刘凤沂, 李惠陵, 邱建友, 张燕雄, 黄丽聪, 李华, 王国忠, 沈晋良, 2010. 惠州地区褐飞虱对几种药剂的抗性监测. 昆虫知识, 47(5): 991—993.
- 罗晨, 姚远, 王戎疆, 闫凤鸣, 胡敦孝, 张芝利, 2002. 利用 mtDNA COI 基因序列鉴定我国烟粉虱的生物型. 昆虫学报, 45(6): 759—763.
- 罗晨, 张芝利, 2000. 烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius) 研究概述. 北京农业科学, 18(增刊): 4—13.
- 马德英, Denholm I, Gorman K, 罗万春, 2007. 新疆 B 型烟粉虱对不同类型杀虫剂的抗性分析. 植物保护学报, 34(3): 311—315.
- Ma DY, Gorman K, Devine G, Luo WC, Denholm I, 2007. The biotype and insecticide-resistance status of whiteflies, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae), invading cropping systems in Xinjiang Uygur Autonomous Region, northwestern China. *Crop Protection*, 26(4): 612—617.
- Muniz M, 2000. Host suitability of two biotypes of *Bemisia tabaci* on some common weeds. *Entomol. Exp. Appl.*, 95(1): 63—70.
- 潘慧鹏, 戈大庆, 王少丽, 吴青君, 徐宝云, 谢文, 张友军, 2010. 在北京和河北局部地区 Q 型烟粉虱取代了 B 型烟粉虱, 植物保护, 36(6): 40—44.
- Rauch N, Nauen R, 2003. Identification of biochemical markers linked to neonicotinoid cross resistance in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 54(4): 165—176.
- Ren SX, Wang ZZ, Qiu BL, Xiao Y, 2001. The pest status of *Bemisia tabaci* in China and non-chemical control strategies. *Insect Science*, 8(3): 279—288.
- Shatters JRG, Powell CA, Boykin LM, Boykin LM, He LS, McKenzie CL, 2009. Improved DNA barcoding method for *Bemisia tabaci* and related Aleyrodidae: development of universal and *Bemisia tabaci* biotype-specific mitochondrial cytochrome c oxidase I polymerase chain reaction Primers. *J. Econ. Entomol.*, 102(2): 750—758.
- Valverde RA, Sim J, Lotrakul P, 2004. Whitefly transmission of plant viruses. *Virus Res.*, 100(1): 123—128.
- Wang ZY, Yan HF, Yang YH, Wu Y. 2010. Biotype and insecticide resistance status of the whitefly *Bemisia tabaci* from China. *Pest Management Science*, 66(12): 1360—1366.
- Wang ZY, Yao MD, Wu YD, 2009. Cross-resistance, inheritance and biochemical mechanisms of imidacloprid resistance in B biotype *Bemisia tabaci*. *Pest Management Science*, 65(11): 1189—1194.
- Wu JB, Dai FM, Zhou XP, 2006. First report of tomato yellow leaf curl virus in China. *Plant disease*, 90(10): 1359.
- Zhang LP, Zhang YJ, Zhang WJ, Wu QJ, Xu BY, Chu D, 2005. Analysis of genetic diversity among different geographical populations and determination of biotypes of *Bemisia tabaci* in China. *J. Appl. Entomol.*, 129(3): 121—128.
- 周尧, 1949. 中国粉虱名录. 中国昆虫学, 3(4): 1—18.