

粉虱和蓟马类害虫的抗药性监测方法^{*}

吴青君^{**} 徐宝云 谢文 王少丽 张友军

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所 北京 100081)

摘要 粉虱和蓟马类害虫是我国经济作物上的主要害虫,为害呈逐年加重趋势,其抗药性也是生产中的主要问题。抗药性水平监测是害虫抗性早期预警和治理的基础,了解害虫抗药性水平须建立一套准确易于操作的监测方法。分别针对粉虱成虫和蓟马的琼脂保湿浸叶法和叶管药膜法的最大特点是快速、便于操作,接虫前的准备工作可以提前 1~2 d 完成,可监测当代试虫的抗性水平,结果更接近于田间实际,适合在粉虱和蓟马抗性监测中推广使用。

关键词 蓟马,粉虱,抗药性,监测方法

Methods for monitoring the resistance of whiteflies and thrips to insecticides

WU Qing-Jun^{**} XU Bao-Yun XIE Wen WANG Shao-Li ZHANG You-Jun

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

Abstract Whiteflies and thrips are major insect pests that cause serious crop damage each year. Insecticide resistance is a major obstacle to the effective control of these pests. Monitoring insecticide resistance is a key step for early warning and resistance management which requires an accurate and convenient methodology. The main benefits of the agar leaf-dipping method for whitefly adults and the leaf tube residue method for thrips are that they are quick and easy to operate. Preparatory work can be completed one or two days ahead of introducing the insects. Also, both methods can monitor the resistance level of the F_0 generation, which is closer to the field situation. These two methods are therefore suitable for promotion for use in monitoring insecticide resistance in whitefly and thrips.

Key words whiteflies, thrips, insecticide resistance, resistance monitoring

粉虱类害虫 (whiteflies) 属于半翅目 (Hemiptera) 粉虱科 (Aleyrodidae) (梁爱萍, 2005), 种类超过 1 550 种 (Martin and Mound, 2007), 其中烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius)、温室白粉虱 *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood)、柑桔粉虱 *Dialeurodes citri* (Ashmead)、螺旋粉虱 *Aleurodicus disperses* Russell 等是重要的农业害虫。蓟马 (thrips) 是缨翅目 (Thysanoptera) 昆虫的总称, 大约有 7 400 多种 (Mound, 2005), 其中约有 1% 的种类可对农作物造成严重危害 (Morse and Hoddle, 2006), 西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* (Pergande)、花蓟马 *F. intonsa* (Trybom)、烟蓟马 *Thrips tabaci* (Lindeman) 等是世界性的园艺作物上

的重要害虫。粉虱和蓟马类害虫农业经济重要性的原因在于其取食和传播作物病害, 直接和间接危害均能造成严重经济损失。例如, B 型烟粉虱被称为“超级害虫” (Culotta, 1991), 2005 年以来烟粉虱传播的番茄黄化曲叶病毒在我国各地暴发成灾, 对我国番茄生产造成毁灭性损失; 西花蓟马也是重要的入侵害虫 (CABI, 2012), 西花蓟马、烟蓟马等传播的番茄斑萎病毒列全世界 10 种危害性最大的植物病毒的第 2 位 (Scholthof *et al.*, 2011)。国内外的实际情况表明, 粉虱和蓟马类等小型害虫的危害呈逐年加重的趋势, 特别是对保护地栽培的园艺作物构成巨大威胁, 生产中药剂防治占主导地位。但由于粉虱和蓟马类害虫体

^{*} 资助项目: 国家科技支撑计划 (2012BAD19B06); 公益性 (农业) 行业科技专项 (201203038); 北京市科委课题 (Z121100001212006)。

^{**} E-mail: wuqingjun@caas.cn

收稿日期: 2013-02-06, 接受日期: 2013-02-20

微小,均能进行两性和孤雌生殖,世代重叠严重,杀虫药剂的不合理使用极易导致抗药性的产生。抗药性监测是害虫抗性早期预警和抗性治理的前提,了解害虫抗药性水平须建立一套准确且易于操作的监测方法。国内外有不少关于粉虱和蓟马害虫抗性监测或生物测定的方法(Alfredo and Anthony, 2003; Brodsgaard, 1994; 田玉安等, 2012; <http://emethods. irac-online. org/>),作者实验室经过不断摸索完善,在这些方法的基础上建立了粉虱成虫抗性监测的琼脂保湿浸叶法和蓟马的叶管药膜法,这两种方法具有操作简单、快速、重复性好、接近于田间实际等优点,可供植保研究人员参考应用。

1 粉虱类害虫抗性监测方法

该方法在 Elbert 等(1996)方法的基础上改进的琼脂保湿浸叶法。

1.1 实验材料

洁净的甘蓝苗(4~6片叶子),微量移液器,平底玻璃管(长78 mm,直径22 mm),自制棉塞,打孔器,镊子,烧杯,三角瓶,量筒,光照培养箱,琼脂粉,蒸馏水, Triton X-100,各种监测所用杀虫剂。

1.2 实验步骤

(1)配制液体琼脂:将琼脂粉用蒸馏水配成15 g/mL。称量所需琼脂量于三角瓶中,加入蒸馏水后放入微波炉中,中火加热6~7 min,小心不要沸出。取出后晾5~10 min,至瓶口热气不再大量涌出。用微量移液器吸取2 mL液体琼脂,加入到平底玻璃管底部,注意不要沾染管壁,不要产生气泡。待液体琼脂冷却凝固,管壁蒸汽挥发干净。

每浓度至少4次重复,计算好所需的管数,此步骤可在配药前一天准备好。

(2)配制药剂:待测杀虫剂原药用丙酮或其它有机溶剂溶解,配制成高浓度贮存液,杀虫剂制剂直接用蒸馏水配制成高浓度母液,然后用含0.01%的 Triton X-100 蒸馏水稀释到所需要的6~8个系列浓度梯度,以0.01%的 Triton X-100 蒸馏水作为对照。

(3)叶片处理:用打孔器将新鲜、平展甘蓝叶片打成直径22 mm叶碟,注意尽量避免选取叶脉大而粗的部位。将叶碟在配好的药液中浸叶10 s,然后置于室温下自然晾干。用镊子夹晾干的叶

碟背面朝上平铺于平底玻璃管中的琼脂上,注意叶碟与琼脂及管壁要严密紧贴,不要留有空隙。在管底标记浓度与重复数。

(4)接试虫:将铺好叶片的管子,倾斜倒放在粉虱寄主植物上,轻拍植株或用嘴吹,使粉虱进入管内,每管20~25头,之后仍将管口朝下待烟粉虱飞(爬)入管底叶盘处,用棉塞塞口,塞至距离管底大约15 mm的位置。

(5)培养和检查结果:将玻璃管倒放入光照培养箱中培养,条件为温度25℃,光照L:D=14:10。可将同一浓度的几个重复用皮筋绑在一起以便于取放。根据药剂的性质确定检查时间,将管取出,仔细检查活虫与死虫数。必要时将棉塞轻轻拉出,检查落于塞表面的死虫数,难以确定状态时,用毛笔触动虫体,不动者或不能正常行动即确认为死亡并填写记录表。采用 POLO 软件分析 LC_{50} 值,95%置信区间和斜率等。注意对照死亡率大于20%时,该实验无效。

2 蓟马类害虫抗性监测方法

该方法是在 TIBS 方法(Alfredo and Anthony, 2003)基础上经过改进的叶管药膜法。

2.1 实验材料

1.5 mL 离心管, parafilm, 吸虫器, 打孔器, 洁净的甘蓝苗(4~6片叶子), 自制吸虫器, 剪刀, 镊子, 培养箱, 蒸馏水, Triton X-100, 各种监测所用杀虫剂。

2.2 实验步骤

(1)配制药剂:同1.2中的(1)。

(2)浸管和浸叶:将每个浓度药液分别注满1.5 mL离心管,放置4 h,然后倒掉药液,将离心管置于实验台上晾干。每管为一个重复,每个浓度至少4个重复。用剪刀将离心管底部剪个小孔(吸虫用),待用。用打孔器将洁净的甘蓝叶片打成直径为1.5 cm的叶碟,分别在每个浓度药液中浸10 s。处理后的叶碟置于室温下自然晾干,用小镊子夹入相应药液浓度的离心管中,每管1片。

上述步骤可在接虫的前1~2 d完成,离心管放在4℃条件下保存。

(3)接虫:在田间操作时,可将植物上的蓟马轻拍至白纸上,自制吸虫器(将1 mL枪头在中间位置剪断,连接到内直径为5 mm的透明硬管的一

端,透明硬管的另一端绑上两层细纱,有细纱的一端连接步骤(2)处理后的离心管,在另一端吸气,将白纸上的试虫吸入管中,每管约 15 头试虫,然后盖好管盖,用封口膜封好剪口,注意封两层,以免一层会破,多层透气不好。也可将蓟马从田间采回实验室,用真空泵吸虫,速度更快。将真空泵的接口用纱布封好,套在处理好的离心管管口,打开真空泵,调节气流大小,把离心管管底的剪口对准试虫,使试虫顺气流吸入离心管内。

(4)试虫培养和检查结果:将离心管放在温度为 25℃,光照 L:D = 16:8 的环境下放置。根据药剂的性质确定检查时间,以毛笔尖轻触虫体不能爬动者视为死亡。数据处理方法同 1.2 中(5)。

3 讨论

抗性监测是为了快速准确地了解害虫抗药性的水平及发展动态,为害虫的抗性预警和治理提供依据。一个好的抗性监测技术需具备费用低、快速、可重复、操作简单、准确等特点,以便让更多研究人员掌握使用。粉虱成虫生物测定方法如培养皿法、水杯法、指形管法、插口离心管琼脂保湿浸叶法等,蓟马生物测定方法如浸叶法、浸豆莢法、点滴法、TIBS 法、玻璃残留处理法等,是不同研究人员根据实验条件和反复实验研发的生物测定方法,均能有效地对粉虱和蓟马进行抗性监测。本研究介绍的琼脂保湿浸叶法已对温室白粉虱和烟粉虱(Q 型和 B 型)进行过多年的抗性监测,采用叶管药膜法分别对西花蓟马、花蓟马和烟蓟马田间种群进行抗性监测,结果稳定可靠。这两种方法的最大的特点是快速、便于操作,接虫前的准备工作可以提前 1~2 d 完成,在田间可边采集试虫边接虫,可监测当代试虫的抗性情况,结果更接近于田间实际。特别适合对田间种群的抗性监测,

可在粉虱类成虫和蓟马生物测定和抗性监测中推广使用。

参考文献 (References)

- Alfredo R, Anthony MS, 2003. Development of a bioassay system for monitoring susceptibility in *Thrips tabaci*. *Pest Manag. Sci.*, 59(5):553–558.
- Brodsgaard HF, 1994. Insecticide resistance in European and African strains of western flower thrips (Thysanoptera: Thripidae) tested in a new residue-on-glass test. *J. Econ. Entomol.*, 87(5):1141–1146.
- CABI, 2012. Invasive Species Compendium. Wallingford, UK: CAB International. www.cabi.org/isc.
- Culotta E, 1991. “Superbug” attacks California crops. *Science*, 254(5037):1445.
- Elbert A, Nauen M, Cahill AL, Devonshire AW, Scarr SS, Steffens R, 1996. Resistance management with chlornicotinyl insecticides using imidacloprid as an example. *Pflanzen-Nachricht Bayer*, 49:5–53.
- Martin JH, Mound LA, 2007. An annotated check list of the world's whiteflies (Insecta: Hemiptera: Aleyrodidae). *Zootaxa*, 1492:1–84.
- Mound LA, 2005. Thysanoptera (thrips) of the world - a checklist. <http://www.ento.csiro.au/thysanoptera/worldthrips.php>. Accessed on 18 October 2012.
- Scholthof KBG, Adkins S, Czosnek H, Palukaitis P, Jacquot E, Hohn T, Hohn B, Saunders K, Candresse T, Ahlquist P, Hemenway C, Foster GD, 2011. Top 10 plant viruses in molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol.*, 12(9):938–954.
- 梁爱萍, 2005. 关于停止使用“同翅目 Homoptera”目名的建议. *昆虫知识*, 42(3):332–337.
- 田玉安, 杨茜茹, 梁沛, 高希武, 2012. 一种改进的粉虱成虫生物测定方法. *应用昆虫学报*, 49(2):556–561.