

四种粉虱种群超微形态特征多样性研究^{*}

孙会忠^{1**} 董钧锋¹ 宋月芹¹ 林克剑^{2***}

(1. 河南科技大学林学院 洛阳 471003; 2. 中国农业科学院植物保护研究所 北京 100193)

摘要 运用扫描电子显微镜对烟粉虱 *Bemisia tabaci*、非洲伯粉虱 *Bemisia afer*、温室粉虱 *Trialeurodes vaporariorum* 和柑桔粉虱 *Dialeurodes citri* 4 种粉虱 4 龄若虫的超微形态特征进行了初步研究。结果表明,扫描电子显微镜下的超微结构特征可很好地将 4 种粉虱区分开来,如烟粉虱圆锥状的舌状突,非洲伯粉虱尾沟两侧隆起上形成的横脊,温室粉虱形态典型的乳突和泌蜡孔,柑桔粉虱近圆形的皿状孔及其尾沟内的卵石状乳突等特异特征。并根据种间的超微结构特异特征,编制了不同种的简明检索表。超微形态特征为粉虱种群鉴定提供了可靠的理论参考。

关键词 粉虱,超微形态特征,多样性,扫描电子显微镜

Studies on the ultra-morphological characteristics diversity of four populations of whitefly species (Hemiptera: Aleyrodidae)

SUN Hui-Zhong^{1**} DONG Jun-Feng¹ SONG Yue-Qin¹ LIN Ke-Jian^{2***}

(1. College of Forestry, Henan Sci-Tech University, Luoyang 471003, China;

2. Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China)

Abstract The ultra-morphological characteristics of the 4th instar nymphs of four whitefly species, including *Bemisia tabaci*, *Bemisia afer*, *Trialeurodes vaporariorum* and *Dialeurodes citri*, was observed with scanning electron microscope (SEM). The results showed that the ultra-morphological characteristics could be make a distinction among four whitefly species researched, such as the conical lingula of *Bemisia tabaci*, the horizontal wrinkles on bulge region beside the end groove of *Bemisia afer*, the protuberance and aperture used to secrete wax of *Trialeurodes vaporariorum*, the circular vasiform orifice and pebble protrude in the end groove of *Dialeurodes citri*, et al. And on the basis of the peculiar ultra-morphological characteristics among species of whitefly researched, draw up a concise program to retrieval. The ultra-morphological characteristics provided dependable reference to taxonomy for whitefly.

Key words whitefly, ultra-morphological characteristics, diversity, SEM

粉虱俗称小白蛾,是一种世界性害虫,危害范围极其广泛,在我国近几年连年大面积暴发,给农业生产造成了严重威胁和重大经济损失(李祖荫等, 1980; Bellows *et al.*, 1994; 高祖钊等, 1998; 宋备舟等, 2010)。粉虱类害虫的早期研究主要集中在系统学和生物学等方面,研究内容以宏观描述为主(王子清, 1979; 李祖荫等, 1980; 周尧和闫凤鸣, 1988; 闫凤鸣, 1991; 高祖钊等, 1998; 罗志义和周婵敏, 2000; 闫凤鸣, 2001; Delatte *et al.*, 2005)。20 世纪 80 年代以来,针对粉虱类昆虫种

类鉴定的瓶颈问题,国内外陆续开展了一些在分子水平上以遗传多样性分析和种群亲缘关系分析为主的验证性试验(罗晨等, 2002; Ueda and Brown, 2006; 褚栋等, 2007; 沈媛等, 2010)。但纵观关于粉虱研究的文献资料可以发现,不管是从传统的粉虱系统分类,还是分子水平上的种群鉴定或验证,都未从根本上较好的解决粉虱种群识别和鉴定问题,例如烟粉虱 *Bemisia tabaci* 在实际生产或文献中记载的别名或异名多达 22 个之多,温室粉虱 *Trialeurodes vaporariorum* 的也多达 11 个

^{*} 资助项目:公益性行业(农业)科研专项(200803005)。

^{**} E-mail: Huizhong66@126.com

^{***} 通讯作者, E-mail: kjjlin@ippcaas.cn

收稿日期:2010-12-23,接受日期:2011-01-07

(王子清, 1979; 李祖萌等, 1980; 闫凤鸣, 2001), 足见粉虱类昆虫鉴定上的混乱是非常普遍的。因此, 深入细致地开展粉虱类昆虫系统学研究, 仍然是粉虱研究中的一个重大课题。

河南地处中原, 有着独特的地理位置和气候上南北过渡的复杂性, 同时, 河南又是一个农业大省, 种植制度较为多样性, 主产作物地区差异明显, 这些都为世界性害虫粉虱的发生提供了较为有利的自然条件。

粉虱类害虫形体微小, 雌雄成虫体长绝大多数不超过 1 mm, 1~3 龄若虫一般在 0.5 mm 以下, 4 龄若虫体长一般也不超过 1 mm (李祖萌等, 1980; 闫凤鸣, 1991; 高祖钊等, 1998; 罗志义和周婵敏, 2000; 闫凤鸣, 2001), 给粉虱类害虫的系统学研究带来了极大不便。另外, 粉虱类害虫的种内变异也非常普遍, 这些都给粉虱类害虫的种类鉴定造成了一些客观上的障碍。粉虱在传统的光学显微镜下, 多数分类特征的清晰程度难以达到理想状态。在此背景下, 本文对河南省境内分布的烟粉虱、非洲伯粉虱 *Bemisia afer*、温室粉虱和柑桔粉虱 *Dialeurodes citri* 的 4 龄若虫 (即伪蛹 pupal case) 进行了扫描电子显微镜观察, 现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

作者于 2010 年 8 月至 10 月间对河南省全境进行了踏查, 采集了不同地区和不同寄主的粉虱样品, 保存于 70 % 乙醇中备用。

1.2 方法

从 70 % 乙醇中保存的标本中挑选发育良好的烟粉虱、非洲伯粉虱、温室粉虱和柑桔粉虱的 4 龄若虫各 15 头。实验室内置于 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液中超声波振荡洗涤 10 s, 再用 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液冲洗两次, 每次 10 min。之后用 15 % 戊二醛 4 ℃ 下固定 3 h, 再用 1 % 锇酸固定 2 h, 接着用 35 %、55 %、75 %、85 %、95 % 和 100 % 体积分数的丙酮梯度脱水, 每个梯度脱水 10 min, 后用乙酸异戊酯分析纯置换两次, 每次 3 h, 日本产 HCP-2 型二氧化碳临界干燥仪干燥 2 h, JFC-1600 型离子溅射仪喷金镀膜, 最后在 JSM-6360LV 型扫描电子显微镜下观察, 并挑选典型视野照相。加速电压为 15 kV。

量化特征取 6 次观察测量的平均值, 描述术

语参考文献 (李祖萌等, 1980; 闫凤鸣, 1991, 2001; 周尧和闫凤鸣, 1988)。

2 结果与分析

2.1 4 种粉虱种群的伪蛹超微形态特征及其分析

(1) 烟粉虱

该种隶属于小粉虱属。

分布: 河南全境均有分布, 郑州、洛阳、新乡、开封等地市已严重发生。驻马店、信阳山区一带发生较为轻微。

主要特征: 伪蛹椭圆形, 长约 810 μm , 宽约 460 μm , 边缘常有凹陷, 横蜕裂缝和胸中缝较短 (图版 I:A); 皿状孔 (vasiform orifice) 三角形, 边缘衣领状环较薄, 平直 (图版 I:B), 侧面内缘具有沟壑状褶纹 (图版 I:C)。盖瓣 (operculum) 亚圆形, 基部缢缩, 宽约 50 μm , 长约 30 μm , 覆盖皿状孔的三分之一。舌状突 (lingula) 圆锥状, 长约 30 μm , 顶端具一对刚毛, 长约 30 μm (图版 I:B,C); 尾沟比较开阔, 宽约 15 μm , 尾沟内面密被绒毛 (图版 I:D); 皿状孔外围和尾沟两侧隆起显著。伪蛹后端的尾沟两侧一对刚毛通常发达 (图版 I:B,C)。

边缘常有凹陷; 皿状孔三角形; 侧面内缘具有沟壑状褶纹, 盖瓣覆盖皿状孔的三分之一; 尾沟内面密被绒毛; 皿状孔外围和尾沟两侧隆起显著等特征, 可作为区分该种群稳定的识别依据。

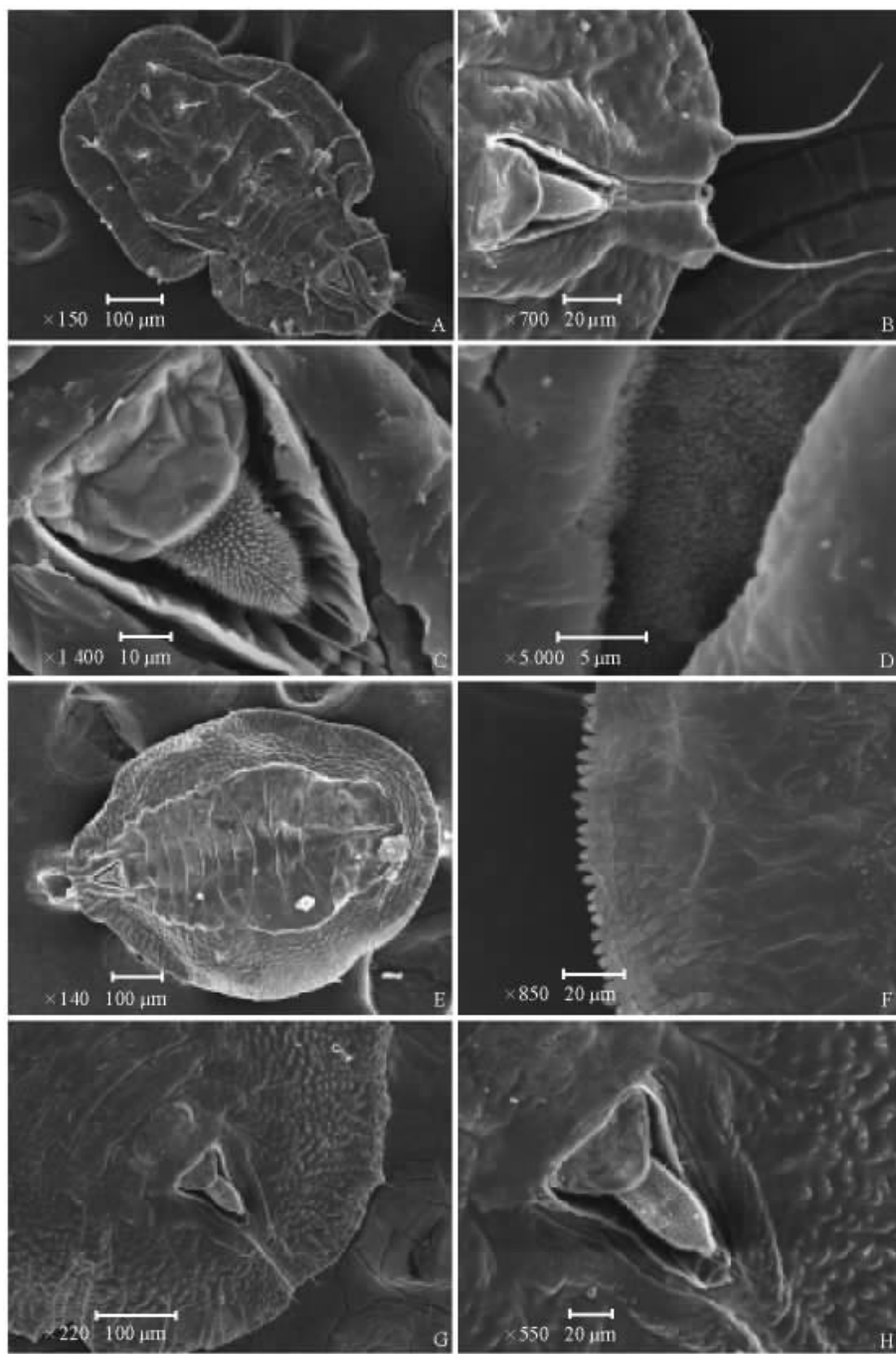
(2) 非洲伯粉虱

该种隶属于伯粉虱属。

分布: 主要分布在豫南、豫中, 其中以新郑市、新乡县、鄱陵县、确山县、睢县最为集中, 其它地区星散分布。

主要特征: 伪蛹椭圆形, 长约 900 μm , 宽约 750 μm , 周缘蜡质分泌物较少, 横蜕裂缝和胸中缝较短 (图版 I:E), 缘齿比较发达 (图版 I:F); 皿状孔长三角形, 边缘衣领状环较薄, 两侧中部向内稍凹陷, 侧面内缘具有沟壑状褶纹。盖瓣亚圆形, 基部缢缩, 宽约 80 μm , 长约 50 μm , 覆盖皿状孔的三分之一。舌状突长, 基部圆柱状, 顶部锐尖, 长约 90 μm , 顶端具一对刚毛, 长约 45 μm ; 尾沟狭窄, 宽约 9 μm , 尾沟内面密被绒毛 (同烟粉虱); 皿状孔外围和尾沟两侧隆起 (不及烟粉虱显著), 尾沟两侧的隆起上具有若干横脊。伪蛹后端的尾沟两侧一对刚毛通常不发达 (图版 I:G,H)。

图版 I 电镜下的烟粉虱和非洲伯粉虱伪蛹特征

Plate I The pupal case ultra-morphological characters of *B. tabaci* and *B. afer* under SEM

A, E. 示伪蛹整体观; B ~ D, F ~ H. 示伪蛹局部特征; A ~ D 为烟粉虱; E ~ H 为非洲伯粉虱。

A and E show the whole view; B ~ D and F ~ H show the part view; A ~ D are *B. tabaci*; E ~ H are *B. afer*.

缘齿比较发达;皿状孔长三角形,两侧中部向内稍凹陷;舌状突长,基部圆柱状,顶部锐尖;尾沟两侧的隆起上具有若干横脊等特征,可作为区分该种群稳定的识别依据。

(3) 温室粉虱

该种隶属于蜡粉虱属。

分布:分布范围同烟粉虱。

主要特征:伪蛹长椭圆形,长约 940 μm ,宽约 430 μm 。背盘区与亚缘区逐渐过渡,背盘区具数量不等的大乳突(图版 II:A),亚缘区具小乳突,缘齿比较发达(图版 II:A,B);皿状孔心脏形,边缘衣领状环较薄,侧面内缘具有沟壑状褶皱。盖

瓣亚圆形,基部缢缩,宽约 $55\ \mu\text{m}$,长约 $40\ \mu\text{m}$,覆盖皿状孔的三分之二。舌状突粗短,三叶草状,顶部钝圆,长约 $20\ \mu\text{m}$,顶端具一对短刚毛,长约 $10\ \mu\text{m}$ (图版 II:C);尾沟狭窄,宽约 $10\ \mu\text{m}$ (图版 II:A,C),尾沟内面密被绒毛(同烟粉虱);皿状孔外围和尾沟两侧隆起不显著。伪蛹后端的尾沟两侧一对刚毛通常不发达(图版 II:A)。温室粉虱背盘区和亚缘区上的泌蜡孔尤为显著(图版 II:D)。

背盘区的大乳突,亚缘区的小乳突;缘齿比较发达;皿状孔心脏形,外缘弧状弯曲,侧面内缘具有沟壑状褶皱;盖瓣覆盖皿状孔的三分之二;舌状突粗短,三叶草状,顶部钝圆等特征,可作为区分该种群稳定的识别依据。

(4) 柑桔粉虱

该种隶属于裸粉虱属。

分布:主要分布在豫西、豫北和豫南,以陕县、淇县、内乡最为集中。

主要特征:伪蛹椭圆形,长 $980\ \mu\text{m}$,宽 $500\ \mu\text{m}$ 。边缘比较规则,背盘区和亚缘区之间逐渐过渡,且覆盖的蜡质分泌物相对较少(图版 II:E);皿状孔近圆形,边缘衣领状环宽厚,特别是皿状孔上端边缘,凸起更加宽厚。盖瓣亚圆形,基部缢缩,宽约 $30\ \mu\text{m}$,长约 $35\ \mu\text{m}$,几乎覆盖皿状孔的全部。舌状突不暴露(图版 II:F),侧面内缘具有稀疏分布的椎状毛刺(图版 II:G);尾沟前三分之一部分(与皿状孔相邻一端)开阔,宽约 $40\ \mu\text{m}$,尾沟内面密被卵石状乳突。尾沟后三分之二部分明显狭窄,宽约 $6\ \mu\text{m}$,卵石状乳突相对稀疏(图版 II:F,E);皿状孔外围隆起不明显,而尾沟两侧隆起显著(图版 II:F);皿状孔的前端和后端两侧分别有对称分布的两对短刚毛,伪蛹后端的一对刚

毛通常发达,且不分布在边缘,而是分布在靠上位尾沟两侧,距边缘约 $30\ \mu\text{m}$ (图版 II:F,H)。

皿状孔近圆形,边缘衣领状环宽厚;盖瓣几乎覆盖皿状孔的全部;舌状突不暴露;侧面内缘具有稀疏分布的椎状毛刺;尾沟内被卵石状乳突等特征,可作为区分该种群稳定的识别依据。

2.2 4种粉虱种群几个方面的共有特征及其分析

在4种粉虱种群的电镜观察过程中,不同粉虱个体之间的共有特征主要体现在以下几个方面:

(1) 位于皿状孔当中的盖瓣在高倍镜下,可见表面粗糙,形似海绵盖瓣尾端着生较长毛刺。盖瓣基部均有缢缩现象(图版 III:A)。

(2) 位于盖瓣下的舌状突在高倍镜下,除柑桔粉虱种群个体外,其他种群个体均可见密生的毛刺,毛刺基部锥状膨大(图版 III:B)。

(3) 不同粉虱种群个体均具有或多或少的蜡纸乳突(图版 III:B)。

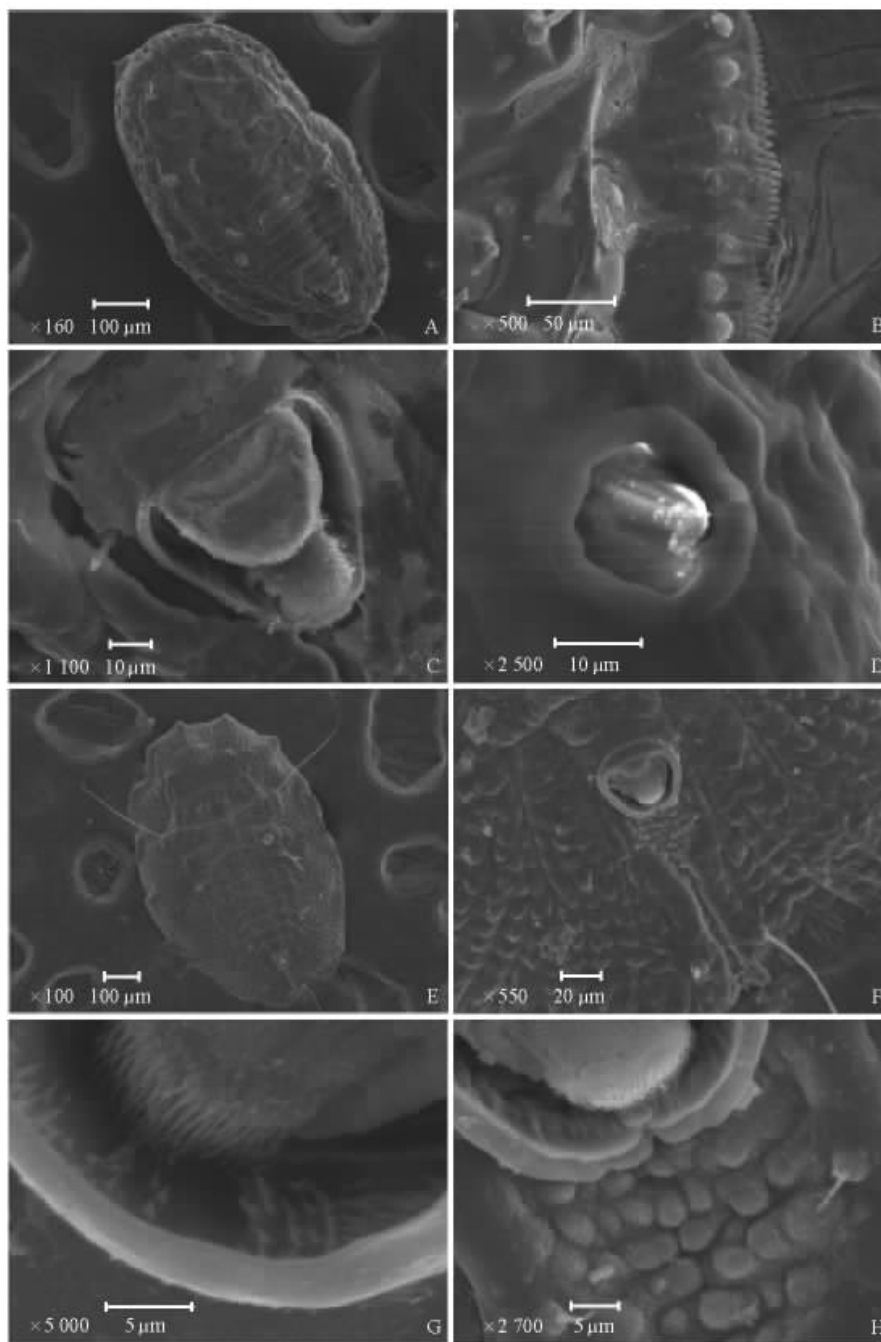
(4) 不同种群个体的伪蛹表面,包括背盘区和亚缘区,除个别种具有明显分布规律的刚毛外,还普遍具有或多或少星散分布、长短不一的刚毛,此类刚毛的数量在不同个体间变异较多,即使是同一种的不同个体间,也会因寄主的不同而显示出不同的变异,此类刚毛分类意义不大(图版 III:D)。

2.3 基于4种粉虱电镜观察特征的种群检索表

粉虱种群的识别仍然是开展相关研究的第一步,为后续研究需要,通过对上文描述特征和扫描电镜图片的观察对比,编制了4种粉虱伪蛹简明检索表。

图版 II 电镜下的温室粉虱和柑桔粉虱伪蛹特征

Plate II The pupal case ultra-morphological characters of *T. vaporariorum* and *D. citri* under SEM

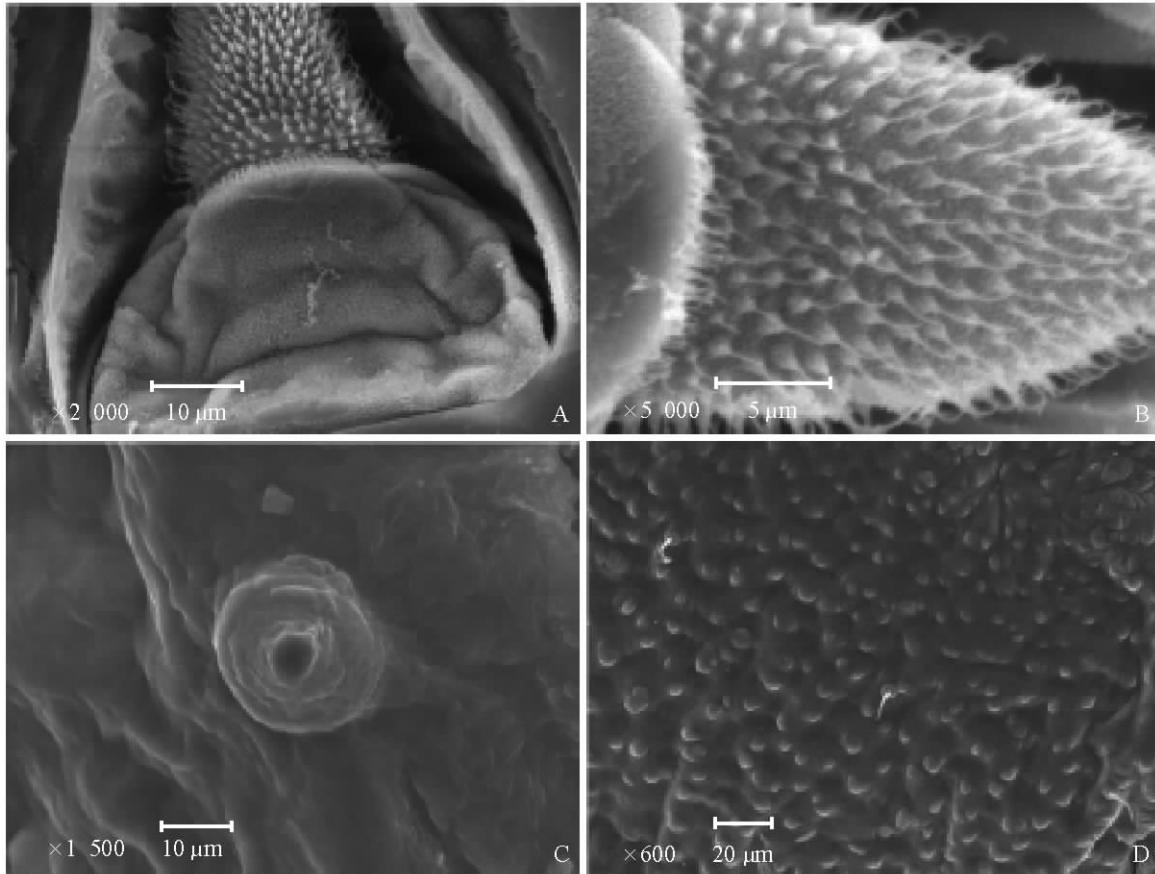


A, E. 示伪蛹整体观; B ~ D, F ~ H. 示伪蛹局部特征; A ~ D 为温室粉虱; E ~ H 为柑桔粉虱。

A and E show the whole view; B ~ D and F ~ H show the part view; A ~ D are *T. vaporariorum*; E ~ H are *D. citri*.

图版 III 不同粉虱种群伪蛹具有的一些普遍特征

Plate III The common ultra-morphological characters of pupal case under SEM



A. 示盖瓣的表面及缢缩情况; B. 示舌状突表面的锥刺; C. 示蜡质乳突; D. 示伪蛹上星散分布的刚毛。

A shows the surface and contract of operculum ; B shows the conical bristle on lingula ;

C shows the protuberance ; D shows the bristle distribution as star on pupal case.

扫描电镜下 4 种粉虱种群 4 龄若虫(伪蛹)检索表

- 1 皿状孔近圆形,边缘衣领状环宽厚;盖瓣几乎覆盖皿状孔的全部;舌状突不暴露;侧面内缘具稀疏分布的椎状毛刺;尾沟内被卵石状乳突 柑桔粉虱 *Dialeurodes citri*
- 1 皿状孔心脏形或三角形,边缘衣领状环薄;盖瓣覆盖皿状孔的一部分;舌状突外露;侧面内缘具沟壑状褶皱;尾沟内密被绒毛 2
- 2 边缘比较规则,背盘区具大乳突,亚缘区具小乳突;皿状孔心脏形,侧面内缘具沟壑状褶皱;舌状突粗短,顶部钝圆,三叶草状 温室粉虱 *Trialeurodes vaporariorum*
- 2 边缘比较规则或常有内陷,背盘区无典型规律的乳突;皿状孔三角形,侧面内缘具沟壑状褶皱;舌状突较长 3
- 3 皿状孔长三角形,且两侧中部向内稍凹陷;舌状突长,基部圆柱状,顶部锐尖;尾沟两侧的隆起上具有若干横脊 非洲伯粉虱 *Bemisia afer*
- 3 伪蛹边缘常有凹陷;皿状孔三角形;舌状突较非洲伯粉虱短,圆锥状,盖瓣覆盖皿状孔的三分之一;尾沟内面密被绒毛;皿状孔外围和尾沟两侧隆起显著;尾沟两侧的隆起上具有若干横脊 烟粉虱 *Bemisia tabaci*

3 讨论

经典的粉虱种群分类系统当中,族、属和种三个分类阶元的划分主要是依据第4龄若虫(伪蛹)的形态特征(王子清,1979;李祖荫等,1980;周尧和闫凤鸣,1988;闫凤鸣,1991;Bellows *et al.*, 1994;高祖钊等,1998;罗志义和周婵敏,2000;闫凤鸣,2001;Delatte *et al.*, 2005),这是粉虱系统学研究中独特的地方,然而,即使是处于静态的伪蛹,因其在不同种群之间,甚至在同一种群的不同个体之间,也会因为环境因素、寄主植物的不同而发生不同程度的变异,这种情况给粉虱种群或个体的准确鉴定带来了极大的不便,也是经常错误鉴定最根本的原因(Bellows *et al.*, 1994;闫凤鸣, 2001)。本研究通过对4种不同粉虱种群较多个体扫描电子显微镜下较为系统的对比观察,获得的超微结构特征表明,虽然伪蛹个体存在较大的变异,但有些特征在不同种群个体之间是比较稳定的,主要体现在皿状孔的形状及其衣领状环的形态、舌状突的形状、尾沟的形态和表面的蜡饰等方面。如温室粉虱背盘区的大乳突和泌蜡孔的存在,很容易与其他种群区分开来,柑桔粉虱皿状孔宽厚的衣领状环也是该种的一个显著标志。所以,通过电子扫描显微镜大量观察粉虱不同种群,以探索出更多具有稳定分类学意义的特征,以进一步完善和补充粉虱分类体系。

本研究也进一步证实,不同粉虱种群个体上的刚毛数量、长短等特征变异最强,但特定位置的刚毛仍然具有一定的参考价值,如柑桔粉虱伪蛹后端的一对刚毛通常发达,且着生位置明显靠上。

研究过程中还发现,由于伪蛹只是粉虱4龄若虫的“外衣”,再加上个体微小,所以,无论是光镜下观察制片前的处理,还是扫描电镜观察前的材料处理,如果方法、处理试剂浓度以及操作强度不当,均会对“外衣”上的一些结构造成不同程度的破坏,如伪蛹上分布的蜡质乳突、刚毛的数量及长度、伪蛹的纹饰等,进而影响种群的准确判断。

参考文献 (References)

- Bellows TS, Perring TS, Gill RJ, Headrick DH, 1994. Description of a species *Bemisia* (Homoptera: Aleyrodidae) infesting North American agriculture. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 87:195—206.
- 褚栋,陈国发,徐宝云,吴青君,张友军, 2007. 烟粉 B 型和 Q 型群体遗传结构的 RAPD 分析. *昆虫学报*, 50 (3): 264—270.
- Delatte H, Reynau B, Granier M, Thornary L, Lett JM, Goldbach R, Peterschmitt M, 2005. A new silverleaf-inducing biotype Ms of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) indigenous to the islands of the south-west Indian Ocean. *Bull. Entomol. Res.*, 95:29—35.
- 高祖钊,余虹,张志钰,芮开宁,吴叙英, 1998. 桑粉虱形态研究. *昆虫学报*, 41 (2):157—162.
- 李祖荫,李兆华,徐汝梅, 1980. 温室粉虱 (*Trialeurodes vaporariorum* Westwood) 的研究:形态、生物学特性及各虫态的历期. *北京师范大学学报*, 3:137—149.
- 罗晨,姚远,王戎疆,闫凤鸣,胡敦孝,张芝利, 2002. 利用 mtDNA CO I 基因序列鉴定我国烟粉虱的生物型. *昆虫学报*, 45 (6):759—763.
- 罗志义,周婵敏, 2000. 中国柑桔粉虱纪录. *中国南方果树*, 29 (6):15—17.
- 沈媛,杜予州,金桂华,邱宝利,郑福山,任顺祥, 2010. 基于 16S rDNA 基因的中国部分地区非 B 型烟粉虱系统发育关系分析. *昆虫学报*, 53 (1):82—90.
- 宋备舟,王美超,孔云,姚允聪,吴红英,李振茹, 2010. 梨园芳香植物间作区主要害虫及其天敌的相互关系. *中国农业科学*, 43 (17):3590—3601.
- Ueda S, Brown JK, 2006. First report of the Q biotype of *Bemisia tabaci* in Japan by mitochondrial cytochrome oxidase I sequence analysis. *Phytoparasitica*, 34 (4):405—411.
- 王子清, 1979. 温室中常见粉虱的识别. *昆虫知识*, 4:171—173.
- 闫凤鸣, 1991. 北京地区粉虱分类研究. *北京农学院学报*, 6 (2):18—23.
- 闫凤鸣, 2001. 非形态特征在粉虱分类中的运用. *昆虫分类学报*, 23 (2):107—113.
- 周尧,闫凤鸣, 1988. 中国粉虱科新种和新纪录. *昆虫分类学报*, 10 (3):243—246.