

蓟马采集和玻片标本的制作*

张宏瑞¹ Okajima Shûji² Laurence A. Mound³

(1. 云南农业大学植物保护学院 中国昆明 650201; 2 东京农业大学农学部昆虫资源研究室 日本神奈川 243-0034; 3 澳大利亚联邦科学与工业研究组织 澳大利亚堪培拉 2601)

Collecting and slide preparation methods of thrips. ZHANG Hong-Rui¹, OKAJIMA Shûji², LAURENCE A. Mound³(1. *College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China*; 2. *Laboratory of Insect Resources, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture, 1737 Funako, Atsugi, 243-0034 Kanagawa, Japan* 3. *CSIRO Entomology, Canberra 2601, Australia*)

Abstract The paper provides the methods for thrips collection and slide preparation. Thrips(Thysanoptera) may be beaten from flowers, leaves and dead twigs. The slide preparation has two purposes, temporary slides for routine identification and permanent slides for archiving or taxonomic studies. It deals mainly with the procedure of preparing the permanent slides and it includes five steps, maceration, washing, dehydration, mounting, and desiccation.

Key words Thrips, collecting method, slide preparation method.

摘要 介绍蓟马标本的采集方法、常规鉴定用的临时性玻片和存档及分类用的永久性玻片标本的制作方法。标本的采集主要是拍打植物花朵、叶片及枯枝,玻片的制作重点介绍了制作存档和分类用的永久性玻片的5个步骤,即浸解脱色、洗涤、脱水、整姿封盖和干燥。

关键词 蓟马,采集方法,玻片标本制作

蓟马(Thrips)是缨翅目(Thysanoptera)昆虫的通称,属于微型昆虫,体长仅0.5~2.0 mm。多数蓟马属于植食性昆虫,主要危害植物的花器和幼嫩部分,在危害植物的同时,也能够传播植物花粉;还有部分种类在直接取食危害植物和传播植物病毒病造成间接危害的同时,也可以捕食螨类。50%左右的蓟马属于菌食性种类,主要栖息于枯枝落叶层和枯死的树枝上;还有部分蓟马属于捕食性种类,可以捕食一些微型昆虫和螨类等^[1-3]。

世界记录蓟马种类达7400种,中国记录蓟马种类336种^[4],因此,中国的蓟马分类研究工作还有待于进一步加强。要准确鉴定蓟马种类就必须要有制片,好的玻片标本才能提供详实的形态学特征。从事蓟马分类研究的学者,都有自己的采集和制片方法^[1-8],而且各种方法都有其独特之处。随着2003年西花蓟马*Frankliniella occidentalis*(Pergande)在中国的发生为害,也促进了中国的蓟马研究工作。本文旨

在提供一些采集和玻片标本的制作方法,特别是存档和分类用的永久性玻片的制作方法,以供蓟马分类工作者及相关研究人员参考。

1 标本采集

1.1 采集工具及标本保存液

采集工具一般选用采集盘或采集布。采集盘以塑料盘为宜,不宜过大,颜色可以根据实际情况决定,以白色为佳,浅蓝或浅黄色均可;采集布宜选用白色棉布,大小均可。在没有采集布或采集盘的情况下,也可以用白纸或手绢代替。质地细密的扫网也可以用于采集蓟马标本,但运用较少,因为难于确定寄主植物,而且虫体容易损伤,主要运用来采集单一寄主的草坪上的蓟马。此外,还可以用诱集方法采集蓟

* 云南省自然科学基金项目(2005C0024Q);云南省教育厅青年基金项目(5Y0189B)

**E-mail hongruizh@126.com

收稿日期 2005-10-19,修回日期 2005-12-23

马,但必须当天从诱集盆中将蓟马取出,否则标本容易腐烂。

采集瓶以塑料瓶为宜,一般选用离心管或其它透明的小塑料瓶,在野外采集时方便携带。保存液宜选用 AGA 溶液(按 60%酒精:甘油(化学纯):冰醋酸/乙酸 = 10:1:1 或 95%酒精:蒸馏水:甘油(化学纯):冰醋酸/乙酸 = 8:5:1:1 的比例配制均可),或者直接用 60%~75%的酒精。但用分子生物学研究于蓟马标本宜用 80%~90%的酒精,并尽快保存于冰箱中冷藏。此外,还需要携带细软的小毛刷,用于从采集盘或采集布上粘取蓟马个体,没有小毛刷可用时,可临时用路边的草茎等代替。此外,还需携带采集标签、铅笔等。

1.2 标本采集方法

标本的采集需要根据蓟马的食性来选用适当的采集方法。

植食性蓟马的采集一般用拍打法,将采集盘或采集布置于植株中上部,以木棍或手拍打植株花朵或幼嫩部分,然后用小毛笔蘸取酒精或 AGA 液,即可直接收集蓟马标本。但采集危害形成虫瘿的蓟马则不宜采用这种方法。虫瘿蓟马的采集应该仔细解剖虫瘿,收集虫瘿中的蓟马。当然,也可以采集带有蓟马的植物,放在采集袋中带回室内,分别收集。但如果距离较远,还是以当时直接采集为佳,因为长途携带可能会造成部分蓟马逃逸或寄主植物产生水蒸气,从而将部分蓟马溺死或损伤。

菌食性蓟马的采集宜直接拍打枯死的树枝或植物进行采集,也可以直接在枯枝落叶层中搜索采集。但采集栖息于荫蔽环境中的菌食性蓟马比较困难,如栖息于某些蛀干性害虫的坑道中的菌食性蓟马,有时候采集这些蓟马就全靠运气了。

采集时要注意在每个采集瓶中写上标签,注明采集时间、地点、寄主植物和采集人等,如果可能,还应尽量标明寄主植物的生长期及周围环境等。采集的蓟马带回室内后,应尽量放在冰箱保存,并尽快制成玻片标本。

2 玻片标本的制备

蓟马玻片标本的制作方法可以按研究目的不同而采取不同的方法。制片需要的常规器材主要是解剖镜、制片剂、载玻片、盖玻片和挑针等。载玻片以 76 mm × 26 mm、厚度 0.9~1.2 mm 为宜。盖玻片以圆形为好,可根据虫体大小选用直径为 12 mm 或 15 mm 的盖玻片。挑针可以用昆虫针来制作,将膨大的针头去掉后,将其嵌入小木棍或树枝(也可以用一次性筷子),然后用木工用胶水将其固定即可。可以用各种昆虫针制成一系列挑针,用于挑拨虫体和整姿。常用的蓟马玻片制片剂主要是阿拉伯胶混合液(也叫何燕尔封固液)和加拿大树胶,可以根据不同的制片目的选用这 2 种胶。此外,还需准备摊晾玻片的晾片盘,可以根据玻片大小制作特制的晾片盘,也可以选用普通的盘子代替。

2.1 常规鉴定的临时性玻片制作

常规鉴定的临时性蓟马玻片标本可以选用阿拉伯胶混合液作为制片剂,以降低成本。此法制作的玻片,主要适于幼虫和浅色个体成虫。虽然制片方法较为简单,而且阿拉伯胶成本也较低,但玻片不宜长期保存,韩运发对其优、缺点进行过详细的讨论^[5]。制作方法可以分为 5 个步骤:

(1)将蓟马标本直接从酒精中挑出或 AGA 液中的蓟马移入 70%的酒精。

(2)如果标本还比较柔软,轻轻用微针挑拨虫体附肢,使足、触角及翅等尽量展开。

(3)在解剖镜下进行制片,常规制片方法是在载玻片中央预先滴加 1 滴阿拉伯胶混合液,然后用挑针小心挑取蓟马,置于胶液上,用挑针小心挑拨足、翅、触角等附肢,然后将盖玻片轻轻盖上。还可以在盖玻片中央滴加 1 滴阿拉伯胶混合液,然后用挑针小心挑取蓟马,使其腹部向上置于胶液上,用挑针小心挑拨足、翅、触角等附肢,然后将载玻片尽量放低,刚接触胶液时,尽快将玻片翻转过来,使胶液自动扩散。

(4)玻片制好后置于晾片盘中,用 40~50℃烘箱烘干 3~5 周或置于室内自然晾干。

(5) 玻片晾干后,可以用透明指甲油环状封一圈,然后正确贴上标签。

2.2 存档和分类研究的永久性玻片制作

存档和分类研究的永久性玻片制作宜选用加拿大树胶作为制片剂,但相对来说价格较贵一些。制片过程复杂一些,具体可以分为以下5个步骤:

(1) 浸解脱色:永久性玻片的制作既要考虑能够清晰展现标本的细微特征,此外还要考虑尽量保持标本自然的体色,因此多数标本进行浸解脱色,留出少许标本不进行浸解脱色,以保持自然的体色。多数标本直接从酒精或 AGA 液中挑出浸入 5% 的碱液(NaOH 或 KOH 液)中,室温下(20~25℃)浸泡 4~10 h。浸泡时间根据虫体大小和体色而定,一般个体较小、体色较浅的浸泡时间为 4~6 h 即可;个体较大、体色较深的浸泡时间稍微长一些。留出的不进行浸解脱色的标本,从酒精中取出或从 AGA 液中取出置于 70% 的酒精中,室温下放置 12~24 h 后,直接进行脱水处理。

(2) 洗涤:浸解脱色后的标本要用蒸馏水充分洗涤。将标本从碱液中取出,置于蒸馏水中,浸泡 5~24 h,使其体内容物自然排出。在此过程中可以用微针轻轻按摩虫体,加快虫体内容物排出,但一定要轻微,以免损伤虫体。

(3) 脱水:将标本从蒸馏水中取出,移入 30% 的酒精中(未浸解脱色的标本直接从 70% 酒精中挑出),然后每隔 10~20 min 滴加 1 次 95% 的酒精,每次加 0.1~0.5 mL,重复 10 次以上,使瓶内酒精浓度接近 90%。脱水过程还可以用不同浓度的酒精逐级脱水,即用 30、60、75、80 和 90% 分别浸泡 10~30 min。瓶内酒精浓度接近 90% 或用 90% 的酒精浸泡后将标本直接移入 95% 的酒精中,浸泡 10~20 min,然后将标本移入 2-乙氧基乙醇或二甲苯或丁香油中浸泡 10~30 min,重复 2 次,直到所有标本沉底。但未浸解脱色处理的标本,在逐级脱水的过程中要用微针轻微挑拨虫体,使酒精能够充分进入虫体。

(4) 整姿封盖:在解剖镜下进行制片,载玻

片中央预先滴加 1 滴加拿大树胶,然后用挑针小心挑取蓟马,置于胶液上,用微针从腹面胸、腹部交界处,轻轻戳刺,并用挑针小心挑拨足、翅、触角等附肢,然后将盖玻片尽量放低,轻轻盖上。

(5) 干燥:玻片制好后置于晾片盘中,用 40~50℃ 烘箱烘干 3~5 周或置于室内自然晾干。

所有玻片制好后,均应贴上标签。头向朝向自己,左端贴上采集标签,标明采集时间、地点、寄主植物和采集人等信息。右边贴上鉴定标签,写明玻片编号、虫名、鉴定人等信息。

3 分析和讨论

蓟马标本的采集方法和玻片标本的制作方法也适用于其它一些微型昆虫,如蚜虫、寄生蜂及一些微型的蚊类和蝇类等,各种昆虫可以选用不同的保存液和制片剂。

常规的临时性玻片制片时,如果标本体色较深,如管蓟马类,也应该作浸解脱色,然后洗涤、脱水,这样才能仔细观察标本的细微特征。同时,虫体附肢在处理过程中也会自然伸展,便于制片。在浸解脱色过程中,可以水浴加热来缩短浸泡时间,但要注意碱液浓度,如果要水浴加热,建议选用 2%~3% 的碱液浓度。浸解脱色的时间也不宜太长,如果时间过长,虫体内容物完全溶解,体色过于透明也不利于制片整姿和鉴定。切忌脱水过程一定要缓慢,否则容易造成虫体皱缩,损坏标本,如果选用不同浓度的酒精作逐级脱水,标本的转移比较困难,可以选用皮下注射用的针筒来吸取酒精,然后再加入更高浓度酒精,这样有利于保持标本的完整性。整姿时,用微针戳刺,动作要稍快,但一定要轻微,整姿封片时,为了避免带入太多气泡,可以选用在盖玻片中央预先滴加 1 滴加拿大树胶,然后用挑针小心挑取蓟马,置于胶液上,腹面向上,进行整姿,然后将载玻片靠近,尽量放低,接触盖玻片上的标本后迅速翻转过来。但此法较难掌握,还是以上述方法为佳,制片过程中带入的少量气泡,在烘干过程中会自然消散。胶量的多少也是制片的一个关键技术,一般以能封

住整块盖玻片为宜,玻片制成后,尽量烘干再使用。

总之,常规鉴定用的临时性玻片和存档及分类用的永久性玻片的制作,一定要慢慢积累经验,掌握适当的浸解脱色的时间和脱水的速度及胶液用量,这样才能制成较好的玻片。

参 考 文 献

- 1 Mound L. A. , Marullo R. *Mem. Entomol. Int.* , 1996 , 6 : 35 ~ 40.
- 2 Mound L. A. , Kibby G. *CAB Intern.* , 1998 , 4 ~ 5.
- 3 Okajima S. *Insect and Nature* , 1983 , 18(7) : 23 ~ 25.
- 4 Zhang W. Q. Tong X. L. Bhatti J. S. *Advances in Thysanopterology*. New Delhi Scientia Publishing , 1993. 409 ~ 443.
- 5 韩运发. 中国经济昆虫志. 第 55 册. 北京 : 科学出版社 , 1997. 76 ~ 80.
- 6 张维球 , 曾玲. 植物检疫 , 2004 , 18(3) : 149 ~ 152.
- 7 顾秀慧 , 贝亚维 , 高春光 , 陈华平. 昆虫知识 , 2001 , 38(1) : 71 ~ 73.
- 8 张学礼. 昆虫知识 , 1986 , 23(3) : 137.
- 9 刘宁 , 任立 , 张润志 , 郑建秋 , 王福祥. 昆虫知识 , 2005 , 42(3) : 345 ~ 347.