

西藏发现 Q 型烟粉虱*

卢少华^{1**} 白润娥¹ 翟卿¹ 王保海² 闫凤鸣^{1***}

(1. 河南农业大学植物保护学院, 郑州 450002; 2. 西藏农牧科学院, 拉萨 850000)

摘要 【目的】调查西藏自治区烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius) 的发生情况。【方法】从西藏拉萨采集到烟粉虱各个虫态, 采用 3D 数码显微镜观察所采集烟粉虱的形态特征, 利用 mtCO₂ 分子标记检测烟粉虱的生物型。【结果】明确并详细描述了烟粉虱各形态特征, mtCO₂ 分子标记检测显示西藏采集到的烟粉虱为 Q 生物型。【结论】在形态学鉴定的基础上, 分子生物学鉴定该粉虱为 Q 型烟粉虱, 这是 Q 型烟粉虱在西藏自治区发生的首次报道。

关键词 烟粉虱, Q 型生物型, 西藏, 新记录, 形态特征, 分子鉴定

New record of the *Bemisia tabaci* Q biotype in Tibet, China

LU Shao-Hua^{1**} BAI Run-E¹ ZHAI Qing¹ WANG Bao-Hai² YAN Feng-Ming^{1***}

(1. College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

2. Tibet Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Lhasa 850000, China)

Abstract [Objectives] To determine the biotypes of *Bemisia tabaci* (Gennadius) found in the Tibet Autonomous Region, China. [Methods] Morphological characteristics of whiteflies were observed under a 3D digital microscope, and the biotype of whiteflies collected from Lhasa, Tibet, identified on the basis of variation in the molecular marker mtCO₂. [Results] Analysis of variation in the mtCO₂ molecular marker shows that whiteflies collected in Tibet were of the Q biotype. [Conclusion] The results of both morphological identification and molecular analysis show that the whiteflies collected in Lhasa, Tibet Autonomous Region, were of the *Bemisia tabaci* Q biotype. This is the first report of the *Bemisia tabaci* Q biotype from the Tibet Autonomous Region.

Key words *Bemisia tabaci*, Q biotype, Tibet, new record, morphological characteristics, molecular detection

烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius) 属于半翅目 (Hemiptera), 粉虱科 (Aleyrodidae), 又名银叶粉虱、甘薯粉虱、棉粉虱等 (柯俊成等, 2002), 至少可分为 31 个形态上难以区分、但遗传结构差异显著的生物型 (De Barro *et al.*, 2011; Lee *et al.*, 2013), 并且还有许多种群的生物型尚未确定。目前, 烟粉虱广泛分布于除南极洲外的 90 多个国家和地区, 是世界性的重要农业害虫 (Boykin *et al.*, 2007; De Barro *et al.*, 2011)。我国发生的主要有 11 个生物型, 其中分布最广、为害最重的为两个入侵生物型, B 型 (“中东-小

亚细亚 1 种 “Middle East-Asia Minor 1”) 和 Q 型 (“地中海种” Mediterranean) (Dinsdale *et al.*, 2010)。20 世纪 90 年代末, B 型烟粉虱传入中国, 并迅速蔓延, 广泛取代本地种 (Chu *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2007; Hu *et al.*, 2011)。自 2003 年首次在云南昆明发现以来, Q 型烟粉虱在中国迅猛扩散 (Chu *et al.*, 2006; Rao *et al.*, 2011)。目前有研究表明, Q 型烟粉虱在我国和世界范围内有逐渐取代 B 型烟粉虱成为优势生物型的趋势 (姬琨等, 2010; Teng *et al.*, 2010; Pan *et al.*, 2011)。烟粉虱通过直接取食植物汁液、分泌蜜

* 资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目 (31471776)

**第一作者 First author, E-mail: shaohualu08@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: fmyan@henau.edu.cn

收稿日期 Received: 2015-10-12, 接受日期 Accepted: 2015-12-28

露污染植物和传播植物病毒病危害植物 (Jones, 2003), 并带来了严重的经济损失。烟粉虱为害的逐年加重, 已经引起人们的广泛重视, 烟粉虱的形态特征得到了详细的描述 (闫凤鸣, 1987; 罗晨和张芝利, 2000; Li *et al.*, 2013), 且 mtCO₂ 分子标记方法可以非常方便快捷地检测烟粉虱生物型 (潘慧鹏等, 2010)。

准确鉴定和及时报道烟粉虱的生物型是进行该害虫成灾预警和有效防控的基础。目前, 除西藏之外, 我国其他省、直辖市和自治区均有烟粉虱发生、分布和为害的报道 (任顺祥和邱宝利, 2008; Hu *et al.*, 2011)。作者于 2015 年 7 月在西藏自治区拉萨市堆龙岗德林蔬菜花卉基地进行昆虫采集时, 观察并采集到一品红叶片背面有大量的粉虱, 经形态学观察和分子生物学鉴定, 确定为 Q 型烟粉虱。

1 材料与方法

1.1 样品采集地点

粉虱采集于西藏自治区拉萨市堆龙岗德林蔬菜花卉基地 (地理坐标: 90.96°E, 29.67°N; 海拔约 3 650 m), 该基地常年用于蔬菜生产和花卉繁育; 在一品红 *Euphorbia pulcherrima* 上采到粉虱。粉虱成虫用 75% 乙醇浸泡保存于 2.0 mL 的离心管中; 卵、若虫、伪蛹连同其着生的叶片保存于干燥袋中。

1.2 形态鉴定

取粉虱成虫、带有粉虱卵和若虫的叶片, 用 3D 数码显微镜 (日本 KEYENCE, VHX-600K) 进行观察、测量、拍照。烟粉虱形态鉴定参照闫凤鸣 (1987) 和 Li 等 (2013)。

1.3 分子检测

利用 B 型和 Q 型烟粉虱 mtDNA CO₂ 基因片段的特异性引物对粉虱成虫进行分子检测。PCR 试剂盒购自 TaKaRa 公司。引物由上海生工生物工程公司合成。提取粉虱 mtCO₂ 基因片段进行 PCR 扩增及电泳 (潘慧鹏等, 2010)。B 型烟粉虱 mtCO₂ 基因片段 PCR 扩增特异性引物

(Shatters *et al.*, 2009) 分别为 5'-CTAGGGTT-TATTGTTTGAGGTCATCATATATTC-3' 和 5'-AA-TATCGACGAGGCATTCCTCCCT-3', 扩增产物大小为 478 bp。Q 型烟粉虱 mtCO₂ 基因片段 PCR 扩增特异性引物 (Shatters *et al.*, 2009; 潘慧鹏, 2012) 分别为 5'-CTTGGTAACTCTTCTGTAGATGTGTGTT-3' 和 5'-CCTTCCCGCAGAAGAAA-TTTTGTTC-3', 扩增产物大小为 303 bp。PCR 反应程序设置为 (Shatters *et al.*, 2009; 潘慧鹏, 2012): 94 预变性 2 min, 然后进行 35 个循环: 94 变性 30 s, 64 退火 1 min, 72 延伸 1 min。循环结束后 72 延伸 10 min, 4 保存。PCR 产物用 1.5% 琼脂糖 (1×TAE) 电泳检测, 在 Biorad 凝胶成像仪观察照相。

2 结果与分析

2.1 形态观察

成虫: 烟粉虱的成虫体型小, 外观白色, 多在植物叶片背面大小叶脉处聚集 (图 1:A); 体黄色, 翅白色无斑点, 前翅脉一条不分叉, 体长 ♂0.85 mm、♀0.91 mm 左右, 静止时左右翅合拢呈屋脊状 (图 1:B)。

卵: 烟粉虱的卵淡黄绿色至深褐色, 不规则分布在叶背面 (少见叶正面)。卵长梨形, 有小柄, 有光泽, 与叶面垂直, 卵柄周围有一些胶体物质 (图 1:C)。

若虫: 烟粉虱若虫淡绿色至黄色。2、3 龄的烟粉虱的足和触角退化, 不能爬行, 用口针固定到叶片上。2 龄若虫身体淡黄色, 较透明, 体型较 3 龄小, 皿状孔黄色较明显 (图 1:D); 3 龄若虫黄色, 长 0.6~0.9 mm, 有 2 根尾刚毛 (图 1:E); 3 龄若虫的皿状孔三角形, 长大于宽, 孔后端有小瘤状突起, 孔内缘具不规则齿; 盖瓣半圆形可覆盖孔约二分之一, 舌状突明显伸出于盖瓣之外, 呈长匙形, 末端具两根刚毛; 尾沟清楚, 由皿状孔后通向腹末, 其宽度前后相近 (图 1:F)。

2.2 分子检测

应用 mtCO₂ SCAR (Sequence characterized amplified region) 可有效区分出 Q 型和 B 型烟粉



图 1 西藏新记录种——Q 型烟粉虱各期形态

Fig. 1 Morphology of *Bemisia tabaci* Q, a new record to Tibet

A. 一品红叶背的不同虫态 ; B. 成虫 ; C. 卵 ; D. 2 龄若虫 ; E. 3 龄若虫 ; F. 3 龄若虫皿状孔
(未能采集到 1 龄若虫和 4 龄若虫)。

A. Adults and immature stages of *Bemisia tabaci* on the underside of *Euphorbia pulcherrima* leaf; B. Adult; C. Egg; D. 2nd-instar nymph; E. 3rd-instar nymph; F. Vasiform orifice of a third-instar nymph. (First-instar nymph and fourth-instar nymph were not available in the collection).

虱。经过对扩增条带回收测序鉴定, Q 型烟粉虱能稳定扩增出 303 bp 条带, B 型烟粉虱能稳定扩增出 478 bp 的条带。我们从西藏采集到的烟粉虱成虫中均扩增到 1 条 303 bp 大小的 mtDNA

CO 基因片段 (图 2: 条带 1~4), 从本实验室饲养的 Q 型烟粉虱中扩增到 1 条 303 bp 大小的 mtDNA CO 基因片段 (图 2: 条带 5), 从本实验室饲养的 B 型烟粉虱中扩增到 1 条 478 bp 大

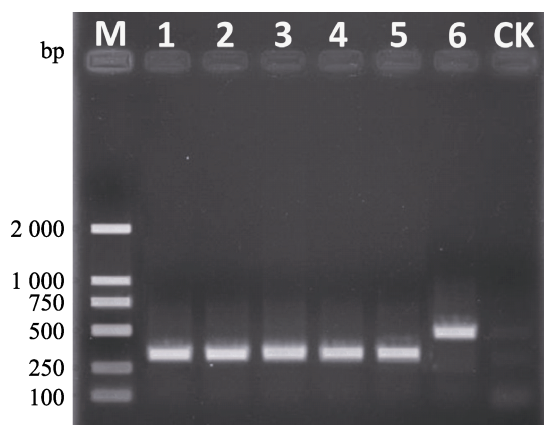


图2 应用 mtCO I 特异性引物鉴定烟粉虱生物型的 PCR 电泳

Fig. 2 PCR electrophoresis of *Bemisia tabaci* mtCO I with biotype-specific primers

M: Marker DL2000; 1~4: 西藏拉萨烟粉虱样品;
5: 室内饲养的 Q 型烟粉虱 6: 室内饲养的 B 型烟粉虱;
CK: 对照。

M: Marker DL2000; Templates in the PCR reactions are as follows: 1-4: Samples from Lhasa, Tibet; 5: Q biotype from laboratory culture; 6: B biotype from laboratory culture; CK: Control.

小的 mtCO 基因片段(图 2: 条带 6)。因此, mtCO 标记分子鉴定表明, 在西藏自治区拉萨市堆龙岗德林蔬菜花卉基地采集的烟粉虱为 Q 型烟粉虱。

3 讨论

粉虱科为热带起源的昆虫, 主要发现于热带和亚热带地区。随着经济发展, 国际和国内贸易、旅游等人类活动, 加上全球气候变暖和农林生产方式的变化、大棚温室等设施的广泛发展, 粉虱也逐步向温带甚至寒带蔓延。陈春丽(2010)预测了烟粉虱在我国未来气温升高 2℃ 情况下, 烟粉虱在我国的分布面积会进一步扩大, 在青海、西藏等尚无粉虱报道的省份也会有粉虱的分布。在对西藏自治区拉萨市堆龙德庆县岗德蔬菜花卉基地采集的粉虱进行形态学鉴定的基础上, 辅助以分子生物学鉴定, 两者鉴定结果一致, 可以确定该粉虱为 Q 型烟粉虱。

Q 型烟粉虱成功入侵中国并扩散与人类活动尤其是花卉等植物调运密切相关(褚栋等,

2012)。例如, 在中国云南昆明的首次发现表明, Q 型烟粉虱的传入可能与 1999 年在云南召开的世界园艺博览会密切相关(Chu *et al.*, 2006)。西藏高原具有严酷的自然环境和独特的高原生态, Q 型烟粉虱能在高原上成功地建立起种群, 表明了其生物学上的特殊适应性, 在新入侵地其天敌资源匮乏等因素的情况下, 该虫在较短时间内在西藏大暴发的危险不容忽视。而且, 西藏实行农药补贴政策, 存在农药滥用的情况, Q 型烟粉虱还只是零星发生, 可能是一品红为烟粉虱喜好的植物, 在其上种群密度大, 农药施用后还是有部分种群存活下来, 其它蔬菜或花卉上的烟粉虱存活较少而没有被发现。此外, 我们采集到 Q 型烟粉虱的植物一品红在温室内大面积种植而且只培养这一种花卉, 如果一个温室内同时培养其它花卉或和蔬菜混合种植, 如防治不及时, 则该种烟粉虱则极有可能扩散爆发。

同时, 我们认为 B 型烟粉虱也有入侵西藏并爆发的风险。实际上 B 型除了农药抗性不如 Q 型外, 在环境适应性上总体比 Q 型强(姬琨等, 2010; 褚栋等, 2012; 卢少华等, 2015), 在农药施用不及时或施用不到的地方, B 型很容易建立种群。我们在采集中注意到, 拉萨周围温室内的蔬菜和花卉上经常喷施大量的化学农药, 推测 Q 型烟粉虱由于其较强的抗药性而存活下来(褚栋等, 2012), 而 B 型(如果入侵西藏的话)则被农药压制而无法发展。

本文虽然是 Q 型烟粉虱在西藏自治区发生的首次报道, 但其入侵时间和入侵途径尚不清楚; 同时, Q 型烟粉虱适应青藏高原严酷环境的生理生化机制、是否存在有别于内地种群的变异等理论问题, 也有待于进一步研究。

参考文献 (References)

- Boykin LM, Shatters RG, Jr Rosell RC, McKenzie CL, Bagnall RA, De Barro PJ, Frohlich DR, 2007. Global relationships of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) revealed using Bayesian analysis of mitochondrial COI DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44(3): 1306–1319.
- Chen CL, 2010. Research on ecology of *Bemisia tabaci* and its prediction, forecasting, early warning. Master thesis. Guiyang:

- Guizhou University. [陈春丽, 2010. 烟粉虱生态学及其预测预报、预警研究. 贵州: 贵州大学硕士论文.]
- Chu D, Pan HP, Guo D, Tao Yi, Liu BM, Zhang YJ, 2012. Ecological processes and mechanisms of invasion of the alien whitefly *Bemisia tabaci* biotype Q in China. *Acta Entomologica Sinica*, 55(12): 1399–1405. [褚栋, 潘慧鹏, 国栋, 陶云荔, 刘佰明, 张友军, 2012. Q 型烟粉虱在中国的入侵生态过程及机制. 昆虫学报, 55(12): 1399–1405.]
- Chu D, Zhang YJ, Brown JK, Cong B, Xu BY, Wu QJ, Zhu GR, 2006. The introduction of the exotic Q biotype of *Bemisia tabaci* (Gennadius) from the Mediterranean region into China on ornamental crops. *Florida Entomologist*, 89(2): 168–174.
- De Barro PJ, Liu SS, Boykin LM, Dinsdale AB, 2011. *Bemisia tabaci*: a statement of species status. *Annual Review of Entomology*, 56: 1–19.
- Dinsdale A, Cook L, Riginos C, Buckley YM, De Barro PJ, 2010. Refined global analysis of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodidae: Aleyrodidae) mitochondrial cytochrome oxidase 1 to identify species level genetic boundaries. *Annals of the Entomological Society of America*, 103(2): 196–208.
- Hu J, De Barro P, Zhao H, Wang J, Nardi F, Liu SS, 2011. An extensive field survey combined with a phylogenetic analysis reveals rapid and widespread invasion of two alien whiteflies in China. *PLoS ONE*, 6(1): e16061.
- Ji K, Bai RE, Tang QB, Jiang JW, Zhang DS, Yan FM, 2010. Biotype identifications and phylogenetic analysis of overwintering *Bemisia tabaci* in protecting fields of Henan Province. *Journal of Henan Agricultural University*, 44(5): 560–565. [姬琨, 白润娥, 汤清波, 蒋金伟, 张大山, 闫凤鸣, 2010. 河南省非露地烟粉虱越冬生物型的鉴定及系统进化. 河南农业大学学报, 44(5): 560–565.]
- Jones DR, 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. *European Journal of Plant Pathology*, 109(3): 195–219.
- Ko CC, Chen CN, Wang CH, 2002. A review of taxonomic studies on the *Bemisia tabaci* species complex. *Taiwan Entomology*, 22: 307–341. [柯俊成, 陈秋男, 王重雄, 2002. 烟草粉虱种群 (*Bemisia tabaci* species complex) 分类学综述. 台湾昆虫, 22: 307–341.]
- Lee W, Park J, Lee GS, Lee S, Akimoto S, 2013. Taxonomic status of the *Bemisia tabaci* complex (Hemiptera: Aleyrodidae) and reassessment of the number of its constituent species. *PLoS ONE*, 8(5): e63817.
- Li JJ, Tang QB, Bai RE, Li XM, Jinag JW, Zhai Q, Yan FM, 2013. Comparative morphology and morphometry of six biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) from China. *Journal of Integrative Agriculture*, 12(5): 846–852.
- Liu SS, De Barro PJ, Xu J, Luan JB, Zang LS, Ruan YM, Wan FH, 2007. Asymmetric mating interactions drive widespread invasion and displacement in a whitefly. *Science*, 318(5857): 1769–1772.
- Lu SH, Li JJ, Liu MY, Bai RE, Tang QB, Yan FM, 2015. Comparative analysis of the competitiveness between B and Q biotypes of *Bemisia tabaci* under laboratory conditions. *Scientia Agricultura Sinica*, 48(7): 1339–1347. [卢少华, 李静静, 刘明杨, 白润娥, 汤清波, 闫凤鸣, 2015. 烟粉虱 B 和 Q 型竞争能力的室内比较分析. 中国农业科学, 48(7): 1339–1347.]
- Luo C, Zhang ZL, 2000. An overview on researches of *Bemisia tabaci* (Gennadius). *Beijing Agricultural Science*, 18(Suppl.): 5–6. [罗晨, 张芝利, 2000. 烟粉虱 *Bemisia tabaci* (Gennadius) 研究概述. 北京农业科学, 18 (Suppl.): 5–6.]
- Pan HP, 2012. Studies on the ecological mechanism of displacement of *Bemisia tabaci* B biotype by Q biotype. Doctoral dissertation. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences. [潘慧鹏, 2012. 烟粉虱 Q 型替代 B 型的生态学机制研究. 博士学位论文. 北京: 中国农业科学院.]
- Pan HP, Chu D, Ge DQ, Wang SL, Wu QJ, Xie W, Jiao XG, Liu BM, Yang X, Yang NN, Su Q, Xu BY, Zhang YJ, 2011. Further spread of and domination by *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) biotype Q on field crops in China. *Journal of Economic Entomology*, 104(3): 978–985.
- Pan HP, Ge DQ, Wang SL, Wu QJ, Xu BY, Xie W, Zhang YJ, 2010. Replacement of B biotype *Bemisia tabaci* by Q biotype *B. tabaci* in some areas of Beijing and Hebei. *Plant Protection*, 36(6): 40–44. [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.]
- Rao Q, Luo C, Zhang H, Guo X, Devine GJ, 2011. Distribution and dynamics of *Bemisia tabaci* invasive biotypes in central China. *Bulletin of Entomological Research*, 101(1): 81–88.
- Ren SX, Qiu BL, 2008. Whitefly of China and the Sustainable Control. Guangzhou: Guangdong Science and Technology Press. 9–10. [任顺祥, 邱宝利, 2008. 中国粉虱及其可持续控制. 广州: 广东科技出版社. 9–10.]
- Shatters Jr. RG, Powell CA, 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. *Journal of Economic Entomology*, 102(2): 750–758.
- Teng X, Wan FH, Chu D, 2010. *Bemisia tabaci* biotype Q dominates other biotypes across China. *Florida Entomologist*, 93(3): 363–368.
- Yan FM, 1987. Taxonomic study on Aleyrodinae from China. Master dissertation. Shanxi: Northwest China Agricultural University. [闫凤鸣, 1987. 中国粉虱亚科 Aleyrodinae 分类研究. 硕士学位论文. 陕西: 西北农业大学.]