

云南茶树蓟马种类 DNA 条形码分析 及临沧茶区优势种群动态调查*

谢艳兰^{1,2**} 吴春莹² 王运宇² 李晓君¹ 杨 坚¹ 张宏瑞^{2***}

(1. 滇西科技师范学院, 临沧 677000; 2. 云南农业大学植物保护学院, 昆明 650201)

摘 要 【目的】分析 DNA 条形码技术应用于云南茶树蓟马种类鉴定的可行性, 明确茶树不同部位的蓟马优势种群, 为监测临沧茶区蓟马优势种群的动态发生规律及其防控提供理论依据。【方法】广泛调查云南茶树蓟马种类, 并采集样本, 通过扩增蓟马的线粒体 CO I 基因序列, 分析蓟马种间和种内遗传距离和系统发育关系; 采用 5 点取样法对云南临沧茶区蓟马优势种的周年发生动态进行调查。【结果】对采集的 3 399 头蓟马成虫标本进行鉴定, 共鉴定出 3 科 19 属 27 种, 经分子测序共获得茶树 27 种蓟马的 54 条 CO I 基因序列, 平均种间遗传距离为 0.269 2, 种内遗传距离为 0.007 7, 种间和种内遗传距离存在明显的条形码间隙, 贝叶斯系统发育分析结果与形态学鉴定结果一致, 每一个单系分支对应一个物种。比较茶树不同部位的蓟马种类和数量, 茶树花中褐三鬃蓟马 *Lefroythrips lefroyi* 数量最多, 占总数的 81.26%; 茶树嫩梢上贡山喙蓟马 *Mycterothrips gongshanensis* 发生数量最多, 占总数的 76.63%。贡山喙蓟马在云南临沧茶区周年发生, 发生动态呈双峰型, 第 1 峰出现在 4 月中旬至 5 月中旬, 第 2 峰出现在 9 月上旬至 10 月上旬。【结论】基于线粒体 CO I 基因的 DNA 条形码技术可有效用于茶树蓟马不同种类的鉴定。临沧茶区茶树花朵和嫩梢上发生数量最多的分别是褐三鬃蓟马和贡山喙蓟马, 根据贡山喙蓟马的周年发生动态, 在虫口数量开始上升时的 2 月下旬和 8 月下旬是防治的关键时期。

关键词 茶树; 蓟马; DNA 条形码; 优势种; 种群动态

DNA barcoding of Yunnan tea plant thrips and investigation of the dynamics of the dominant thrip populations in the Lincang tea-growing area

XIE Yan-Lan^{1,2**} WU Chun-Ying² WANG Yun-Yu² LI Xiao-Jun¹
YANG Jian¹ ZHANG Hong-Rui^{2***}

(1. West Yunnan University, Lincang 677000, China; 2. Plant Protection College, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract 【Objectives】To analyze the feasibility of using DNA barcoding technology to identify tea (*Camellia sinensis*) plant thrip species in Yunnan, clarify the dominant thrip populations on different parts of tea plants, and monitor the population dynamics of this population in the Lincang tea-growing area. 【Methods】Samples of tea plant thrips in Yunnan were extensively investigated and collected. Mitochondrial CO I gene sequences of different species were amplified, and their inter- and intra-specific genetic distances and phylogenetic relationships analyzed. Finally, the five-point sampling method was used to investigate the annual occurrence dynamics of dominant thrip species in the Lincang tea-growing area. 【Results】A total of 3 399 adult thrips specimens were collected, which were classified to 27 species, 19 genera and 3 families. A total of 54 CO I gene sequences of 27 species of tea plant thrips were obtained by molecular sequencing. These had a mean interspecific

*资助项目 Supported projects: 云南省科技厅科技计划项目 (2019FD122); 云南省教育厅科学研究基金项目 (2019J0490); 云南省科技人才和平台计划建设项目 (2018DH011)

**第一作者 First author, E-mail: xieyanlan@126.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: hongruizh@126.com

收稿日期 Received: 2021-09-22; 接受日期 Accepted: 2022-02-10

genetic distance of 0.269 2 and a mean intraspecific genetic distance of 0.007 7. There was an obvious barcoding gap between inter- and intra-specific genetic distances. The results of a Bayesian phylogenetic analysis were consistent with the results of morphological identification; each monophyletic branch corresponds to a single species. Most (81.26%) thrips on tea flowers were *Lefroythrips lefroyi*, whereas the majority (76.63%) on young shoots were *Myctorothrips gongshanensis*. *Myctorothrips gongshanensis* occurs annually in the Lincang tea-growing area and has two annual peaks in abundance, the first from mid-April to mid-May and the second from early September to early October. **[Conclusion]** DNA barcoding technology based on the mitochondrial CO I gene can rapidly and accurately identify tea plants thrips. The critical period for controlling *Myctorothrips gongshanensis* in the Lincang tea-growing area is late February and late August when the population begins to increase.

Key words tea plants; thrips; DNA barcoding; dominant species; population dynamic

云南位于茶树起源中心, 种茶历史悠久, 品种资源丰富, 加之茶园生态优越并且生境稳定, 具有较丰富的昆虫资源, 其中缨翅目 Thysanoptera 昆虫——蓟马在云南茶园广泛发生, 且危害日趋严重, 已成为云南乃至全国茶区的重要害虫类群之一(杨真等, 2017; 孟泽洪等, 2019; 李帅等, 2021)。蓟马类害虫以成虫及若虫藏匿于茶树嫩梢的芽叶贴合处或嫩叶的叶尖和叶缘卷曲处, 锉吸茶树嫩芽和新梢汁液, 造成芽叶出现斑点、焦边、畸形卷曲和伸展缓慢等, 严重时轻触即落, 造成芽梢光秃, 极大影响茶叶的产量和品质(李帅等, 2021; 谢艳兰等, 2021)。当前有关云南茶园蓟马种类的调查多集中于某一区域, 如 Ntirenganya 等(2020)调查了西双版纳勐海县云南省农业科学院示范茶园基地的蓟马种类, 共发现了 5 属 8 种蓟马; 杨真等(2017)对云南农业大学茶园的蓟马种类进行了调查, 共发现了 6 种蓟马; 瞿发文等(2017)调查云南省陇川县茶园的蓟马, 记录了 5 个种类。但云南茶树种植面积大, 茶园类型丰富, 既有野生古茶园, 又有现代化密植茶园, 仅对小片区茶园进行调查不够全面。危害茶树的蓟马种类众多, Okada 和 Kudô (1982)记录了日本茶园 42 种蓟马, 包括茶黄蓟马 *Scirtothrips dorsalis*、黄胸蓟马 *Thrips hawaiiensis*、黄蓟马 *T. flavus*、色蓟马 *T. coloratus* 等; 谢振伦(1987)报道了我国茶园 18 种蓟马, 包括茶黄蓟马 *S. dorsalis*、茶棍蓟马 *Dendrothrips minowai*、黄胸蓟马 *T. hawaiiensis*、褐三鬃蓟马 *Lefroythrips lefroyi* 和狭翅筒管蓟马 *Haplothrips tenuipennis* 等。因蓟马体型微小、隐蔽性强且种

类繁多, 近似种之间的表观形态极为相似, 对鉴定人员的专业性要求很高, 因此依赖于传统形态特征的种类鉴定通常比较困难。近年来, 分子鉴定技术已成为物种分类与鉴定的有效手段。目前国内外已有多篇利用 DNA 条形码技术鉴定蓟马种类的研究, 这些研究均表明基于线粒体 CO I 基因的 DNA 条形码技术可以用于不同种类蓟马的快速准确鉴定(乔玮娜等, 2012; 黄丽莉等, 2014; Ifitikhar 等, 2016; Tyagi 等, 2017; 党利红等, 2018)。

本研究将形态学鉴定与 DNA 条形码技术相结合, 调查分析了云南茶树主要种植区的蓟马种类组成及茶树不同部位的蓟马优势种群, 同时, 通过对云南临沧茶区蓟马优势种群的发生动态进行监测, 掌握蓟马优势种在临沧茶园的发生规律, 为蓟马的生物学研究和综合防控提供科学指导。

1 材料与方法

1.1 样本采集

蓟马样本于 2018-2021 年采自云南省多个茶树种植地区, 包括临沧市临翔区、双江县和凤庆县, 普洱市思茅区、宁洱县和景东县, 西双版纳勐海县和勐腊县, 保山市昌宁县, 红河州金平县以及昆明市云南农业大学教学实习基地茶园, 采集部位为茶树嫩梢和茶花。参考张宏瑞等(2006)方法采集茶树嫩梢的蓟马, 将白色托盘置于茶树树冠下方, 以木棍轻轻拍打茶树嫩梢枝叶, 再用湿润小毛笔将其刷入盛有 75%酒精的 1.8 mL 冻

存管中;茶树花内的蓟马用直接法采集,于茶树种植区的东、南、西、北、中各选取 1 株茶树,每株茶树取下 2 朵茶花,放入装有 75%酒精的 50 mL 离心管中,并标明样本的采集时间和地点等信息,带回室内于 -20 °C 保存。

1.2 蓟马 DNA 提取、PCR 扩增和测序

将蓟马样本置于解剖镜下观察,把形态一致的分在一组并记载编号,每组取 1-5 头进行 DNA 提取,若某形态组仅有 1 头,则先用于 DNA 提取。参照 Buckman 等(2013)及谢艳兰等(2019)的方法处理样本,即将单头蓟马置于载玻片上,待酒精挥发后,用无菌微针穿刺蓟马腹部节 III-V 的节间膜 1-3 次,用天根生化科技(北京)有限公司生产的 TIANamp Genomic DNA Kit 试剂盒提取总 DNA,产物立即进行 PCR 扩增或保存于 -20 °C 冰箱备用。同时,将提取过 DNA 的单头蓟马样本立即置于 75%的酒精中保存,用于玻片标本制作。

以蓟马总 DNA 为模板对 CO I 基因片段的 5'端进行 PCR 扩增。扩增引物为 LCO1490: 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3' 和 HCO2198: 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAA-AATCA-3'(Folmer *et al.*, 1994)。PCR 反应体系为 20 μ L,其中 DNA 模板 3 μ L, 10 μ mol·L⁻¹ 的上游和下游引物各 0.4 μ L, TaKaRa Ex Taq (5 U/ μ L) 0.1 μ L, 10 $\times$ Ex Taq buffer (Mg²⁺ plus) 2 μ L, 10 mmol·L⁻¹ dNTPs 1.6 μ L,灭菌双蒸水 12.5 μ L。扩增条件: 95 °C 预变性 5 min, 95 °C 变性 10 s, 47 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 1 min, 共 35 个循环,最后在 72 °C 充分延伸 10 min, 4 °C 保存。取 5 μ L PCR 产物进行 1%琼脂糖凝胶电泳检测,然后在凝胶成像分析系统中查看检测结果。扩增成功的 PCR 产物委托生工生物工程(上海)股份有限公司进行双向测序。

1.3 CO I 序列处理与分析

使用 DNASTAR 7.1 软件包中的 SeqMan 对测序所得的正反向序列进行拼接和校对编辑,将拼接后的序列进行 BLAST 同源性搜索,以确认扩增片段是目标基因。运用软件 MEGAX(Kumar

et al., 2018) 对序列进行多重比对,剪切两端参差不齐的序列后将其翻译为氨基酸序列,以保证无终止密码子和假基因的存在。将整理好的数据提交到 GenBank 数据库,获得 GenBank 登录号。

利用 MEGAX 计算种内和种间的 Kimura 2-parameter (K2P) 遗传距离 (Nei and Kumar, 2000; Kumar *et al.*, 2018),并根据所得的遗传距离数据,在 Excel 中绘制种内和种间的遗传频率分布直方图。利用 MrBayes v3.1.2 (Ronquist and Huelsenbeck, 2003) 构建系统发育树,以随机树为起始树,马尔科夫链蒙特卡罗 (Markov chain Monte Carlo, MCMC) 运行 3 000 000 代,每 100 代储存一次树,舍弃前 25%抽样的老化样本构建一致树,并计算贝叶斯后验概率值 (Bayesian posterior probability, BP)。

1.4 蓟马标本制作和形态鉴定

蓟马样本(含提取过 DNA 的蓟马)的预处理和标本的制作参照张宏瑞等(2006)报道的方法,经过浸解、洗涤、脱水、整姿封片和干燥 5 个步骤,以加拿大树胶作为制片剂,制成永久性玻片标本。在 ZEISS 连续变倍显微镜下观察蓟马形态特征,参照相关文献资料鉴定蓟马种类(韩运发, 1997; Mound and Kibby, 1998; Zhang *et al.*, 2020; Thrips Wiki, 2021),记录并统计不同种类的数量及不同种类在不同采集部位的占比。

1.5 蓟马种群发生动态调查

调查地点:云南临沧市茶叶研究院的茶园(23°88'N, 100°09'E),茶园总面积约 3 300 m²,主要种植香归银毫、云抗 10 号、清水 3 号和宝洪茶 4 个茶树品种。本试验选取种植面积最大的香归银毫品种进行调查,面积约 2 000 m²,树龄 34 年,调查期间试验地块留芽叶采摘,除进行正常的肥水管理外,不使用化学农药进行病虫害防治,6 月 30 日和 11 月 21 日分别轻修剪一次。

调查时间:2020 年 1-12 月。根据临沧市气候特点和茶树生长实际,3-11 月每 10 d 调查 1 次;1-2 月和 12 月每 30 d 调查 1 次,共调查 30 次。

调查方法:依据杨真等(2017)的方法,采

用 5 点取样法, 每点随机选取 10 个茶尖(1 芽 2 叶)调查蓟马的数量, 若遇茶芽休止期, 则选取同等嫩度对夹叶调查。取样时用 4 号自封袋罩住茶尖并折断, 带回室内, 剥开茶芽仔细检查, 用毛笔蘸取所有蓟马于 75%酒精中, 分别记载蓟马若虫和成虫的数量。

2 结果与分析

2.1 茶树蓟马种类组成及优势种

本研究调查了云南省临沧、普洱及西双版纳等茶树主要种植地区的 11 个市、县, 共采集到 3 399 头蓟马成虫标本, 经形态鉴定, 隶属于 3 科 19 属 27 种, 其中在茶树花中采集到 2 科 3 属 6 种共 1 174 头, 在茶树嫩梢上采集到 3 科 18 属 23 种共 2 225 头(表 1, 表 2)。结果表明, 在茶树花中, 蓟马科三鬃蓟马属的褐三鬃蓟马发生最多, 占总数的 81.26%, 黄胸蓟马 *Thrips hawaiiensis* 次之, 占比为 12.01%, 八节黄蓟马 *T. flavidulus* 发生最轻, 占比为 0.43%。在茶树嫩梢上, 蓟马科喙蓟马属的贡山喙蓟马发生最多, 占比为 76.63%, 在所调查的茶树种植区均有分布; 其次为茶棍蓟马 *Dendrothrips minowai*, 占比为 6.65%, 仅在双江县、思茅区、勐海县和勐腊县

4 个地区采集到; 此外, 狭翅筒管蓟马 *Haplothrips tenuipennis* 和茶黄硬蓟马 *Scirtothrips dorsalis* 也是茶树嫩梢上较为重要的蓟马种类, 分别占总数的 3.82%和 3.42%, 狭翅筒管蓟马分布较广, 在临翔区、凤庆县、昌宁县、思茅区、勐腊县、勐海县和昆明市 7 个地区采集到, 而茶黄硬蓟马仅在宁洱县、勐腊县和勐海县采集到; 天敌蓟马在茶园分布少, 整个调查中仅采集到塔食螨蓟马 *Scolothrips takahashii* 和横纹蓟马 *Aeolothrips fasciatus* 2 个种类, 分别占相应采样数的 0.09%和 0.27%。

2.2 茶树蓟马 DNA 条形码分析

2.2.1 CO I 基因碱基组成及变异 本研究共获得茶树蓟马 CO I 基因序列 54 条, 分属于 3 科 19 属 27 种, 其中纹蓟马科 1 属 1 种共 3 条序列为 663 bp, 蓟马科 13 属 21 种共 43 条序列为 660 bp, 管蓟马科 5 属 5 种共 8 条序列为 651 bp(GenBank 登录号: MZ882400 - MZ882453)。利用 MEGAX 翻译成氨基酸序列, 序列中没有插入、缺失、删除或终止密码子。将所有序列比对剪切为 663 bp 的统一长度, 检测到序列中保守位点 281 个, 变异位点 382 个, 其中简约信息位点 367 个, 单一变异位点 15 个, 变异位点数占总位点数 57.62%。

表 1 云南省茶树花蓟马种类及比例
Table 1 Species and proportion of thrips collected from tea flowers in Yunnan province

蓟马种类 Thrips species			数量(头) Number of thrips (ind.)	占比(%) Proportion (%)	采集地点 Collection sites
蓟马科 Thripidae	三鬃蓟马属 <i>Lefroyothrips</i>	褐三鬃蓟马 <i>Lefroyothrips lefroyi</i>	954	81.26	临翔区, 双江县, 凤庆县, 思茅区, 宁洱县, 景东县, 勐腊县, 勐海县, 昆明市
		黄胸蓟马 <i>Thrips hawaiiensis</i>	141	12.01	临翔区, 思茅区, 勐腊县, 勐海县, 昆明市
	蓟马属 <i>Thrips</i>	杜鹃蓟马 <i>Thrips andrewsi</i>	53	4.51	勐腊县, 凤庆县
		色蓟马 <i>Thrips coloratus</i>	9	0.77	临翔区, 昆明市
		八节黄蓟马 <i>Thrips flavidulus</i>	5	0.43	思茅区, 勐腊县
管蓟马科 Phlaeothripidae	筒管蓟马属 <i>Haplothrips</i>	狭翅筒管蓟马 <i>Haplothrips tenuipennis</i>	12	1.02	临翔区, 凤庆县, 宁洱县, 勐腊县, 昆明市

表 2 云南省茶树嫩梢蓟马种类及比例
Table 2 Species and proportion of thrips collected from tea shoots in Yunnan province

蓟马种类 Thrips species			数量 (头) Number of thrips (ind.)	占比 (%) Proportion (%)	采集地点 Collection sites
蓟马科 Thripidae	喙蓟马属 <i>Mycterothrips</i>	贡山喙蓟马 <i>Mycterothrips gongshanensis</i>	1 706	76.63	临翔区, 双江县, 凤庆县, 思茅区, 宁洱县, 景东县, 勐腊县, 勐海县, 昌宁县, 金平县, 昆明市
		尼尔吉里喙蓟马 <i>Mycterothrips nilgiriensis</i>	23	1.03	临翔区, 勐腊县
	硬蓟马属 <i>Scirtothrips</i>	茶黄硬蓟马 <i>Scirtothrips dorsalis</i>	76	3.42	宁洱县, 勐腊县, 勐海县
		蓟马属 <i>Thrips</i>	25	1.12	临翔区, 凤庆县, 思茅区, 昆明市
	大蓟马属 <i>Megalurothrips</i>	八节黄蓟马 <i>Thrips flavidulus</i>	7	0.31	临翔区, 昌宁县
		棕榈蓟马 <i>Thrips palmi</i>	18	0.81	临翔区, 凤庆县
	毛呆蓟马属 <i>Chaetanaphothrips</i>	烟蓟马 <i>Thrips tabaci</i>	19	0.85	勐腊县, 昆明市
		普通大蓟马 <i>Megalurothrips usitatus</i>	5	0.22	临翔区, 勐腊县
	异色蓟马属 <i>Trichromothrips</i>	兰毛呆蓟马 <i>Chaetanaphothrips orchidii</i>	3	0.13	金平县
		易脆异色蓟马 <i>Trichromothrips fragilis</i>	2	0.09	昆明市
	食螨蓟马属 <i>Scolothrips</i>	塔食螨蓟马 <i>Scolothrips takahashii</i>	148	6.65	双江县, 思茅区, 勐海县, 勐腊县
		棍蓟马属 <i>Dendrothrips</i>	34	1.53	勐海县, 昆明市
	阳针蓟马属 <i>Heliothrips</i>	茶棍蓟马 <i>Dendrothrips minowai</i>	16	0.72	临翔区, 勐腊县, 勐海县
		<i>Dendrothrips</i> sp.	8	0.36	勐腊县, 勐海县, 金平县
	领针蓟马属 <i>Helionothrips</i>	温室针蓟马 <i>Heliothrips haemorrhoidalis</i>	2	0.09	勐腊县
		木姜子领针蓟马 <i>Helionothrips annosus</i>	13	0.58	勐腊县, 勐海县
	异毛针蓟马属 <i>Anisopilothrips</i>	神农架领针蓟马 <i>Helionothrips shennongjiaensis</i>	8	0.36	临翔区, 思茅区, 勐海县
		丽异毛针蓟马 <i>Anisopilothrips venustulus</i>	6	0.27	临翔区, 昆明市
	星针蓟马属 <i>Astrothrips</i>	横纹蓟马 <i>Aeolothrips fasciatus</i>	85	3.82	临翔区, 凤庆县, 昌宁县, 思茅区, 勐腊县, 勐海县, 昆明市
		狭翅筒管蓟马 <i>Haplothrips tenuipennis</i>	9	0.40	勐海县, 昆明市
管蓟马科 Phlaeothripidae	筒管蓟马属 <i>Haplothrips</i>	滑管蓟马属 <i>Liothrips</i>	6	0.27	金平县, 勐海县
		长鬃管蓟马属 <i>Karnyothrips</i>	1	0.04	勐腊县
	称管蓟马属 <i>Xylaplothrips</i>	眼管蓟马属 <i>Ophthalmothrips</i>	5	0.22	勐腊县, 勐海县
		芒眼管蓟马 <i>Ophthalmothrips miscanthicola</i>			
	眼管蓟马属 <i>Ophthalmothrips</i>				

整个序列结构中 A、T、G 和 C 的含量分别为 30.8%、39.4%、13.6%和 16.2%; A+T 含量较高, 为 70.2%, G+C 含量为 29.8%, 呈现较强的 A/T 偏倚。

2.2.2 遗传距离分析 以 K2P 模型计算茶树蓟马 CO I 序列种间和种内的遗传距离, 27 个种类共 54 条序列, 其中有 9 个种类样本数为 1, 其余种类样本数为 2-5 个。结果表明, 茶树蓟马 CO I 基因的种间遗传距离为 0.119 4-0.449 2, 平均种间遗传距离为 0.269 2, 其中贡山喙蓟马 *Mycterothrips gongshanensis* 与尼尔吉里喙蓟马 *M. nilgiriensis* 之间的遗传距离最小, 为 0.119 4; 横纹蓟马 *Aeolothrips fasciatus* 与芒眼管蓟马 *Ophthalmothrips miscanthicola* 之间的遗传距离最大, 为 0.449 2; 种内遗传距离为 0.000 0-0.039 9, 平均种内遗传距离为 0.007 7, 其中丽异毛针蓟马 *Anisopilothrips venustulus*, 横纹蓟马 *Aeolothrips fasciatus* 和滑管蓟马属的 *Liothrips* sp. 的种内遗传距离最小, 为 0.000 0; 八节黄蓟马 *Thrips flavidulus* 的种内遗传距离最大, 为 0.039 9。根据 CO I 基因遗传数据制作的种内和种间的遗传频率分布直方图可见 (图 1), 种内

遗传距离均小于种间遗传距离, 存在明显的条形码间隙 (Barcoding gap)。

2.2.3 基于系统发育树的物种鉴定 以半翅目叶蝉科茶小绿叶蝉 *Empoasca onukii* 的 CO I 序列 (GenBank 登录号: MH631469) 作外群, 构建茶树蓟马 CO I 基因的贝叶斯系统发育树。结果表明, 本研究 27 个茶树蓟马种类可以分别聚合成高支持率的 27 个分支 (图 2)。从系统关系看, 管蓟亚目的管蓟马科单独聚为一个分支, 从系统树基部最先分出来, 随后锯尾亚目的纹蓟马科和蓟马科聚合成的另一个大分支从系统树中分出, 均具有高的支持率 (BP=1)。蓟马科内, 蓟马亚科和棍蓟马亚科形成一个大分支, 与针蓟马亚科形成姐妹关系; 针蓟马亚科与棍蓟马亚科分别形成单系, 具有较高的支持率, 但蓟马亚科由于塔食蓟马 *Scolothrips takahashii* 从内部分出, 不形成单系。管蓟马亚科形成单系, 与灵管蓟马亚科形成姐妹关系。此外, 同一属的不同种类聚为一支, 如蓟马属 *Thrips*、喙蓟马属 *Mycterothrips*、棍蓟马属 *Dendrothrips* 和领针蓟马属 *Helionothrips* 属内的不同种类均分别聚为高支持率的清晰分支 (BP=1)。

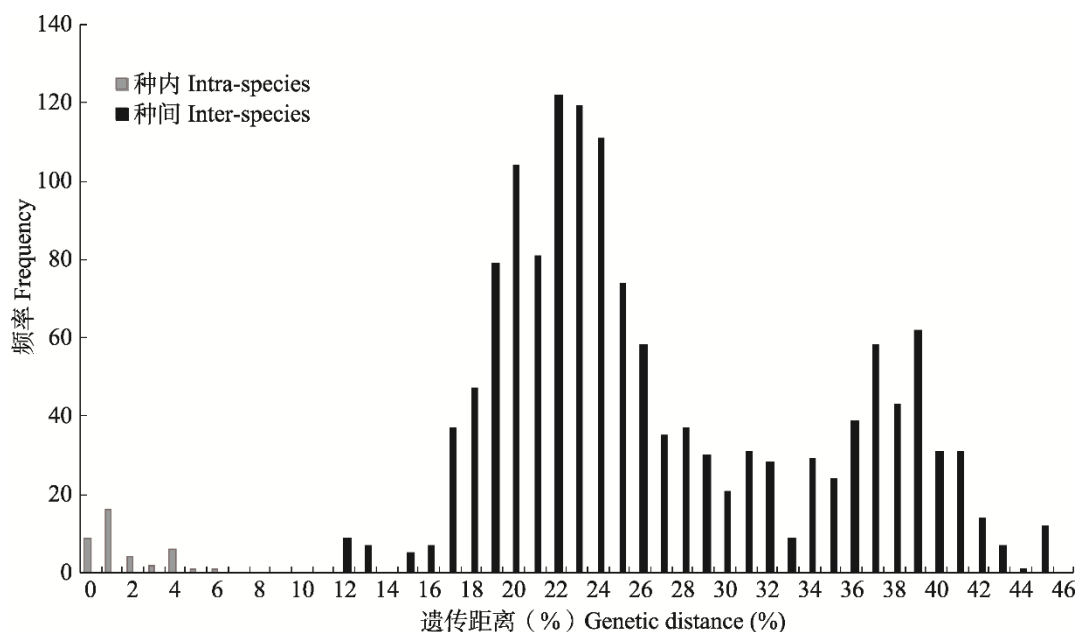
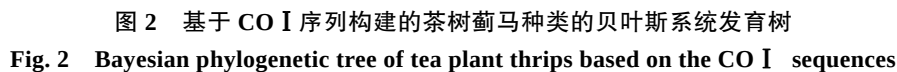


图 1 基于 CO I 序列的种内和种间遗传距离频率分布直方图

Fig. 1 Frequency distribution of intraspecific and interspecific pairwise genetic distances (K2P) for the CO I sequences of the 27 tea plants thrips species



图中生物学名对应的中文名称见表 1 和表 2。

云南临沧茶树嫩梢蓟马优势种为贡山喙蓟马 *Mycterothrips gongshanensis*, 其种群发生动态如图 3 所示。贡山喙蓟马自 2020 年 1 月至 12 月均有发生, 无越冬现象, 种群增长呈双峰型, 若虫的发生数量通常远高于成虫, 特别是在高峰

期。自2月下旬开始,种群数量逐渐上升,4月中旬至5月中旬,出现贡山喙蓟马种群暴发的第一个高峰期,总虫量在4月28日达到最高,为283头/50梢,5月下旬至8月下旬,种群数量呈横向波动变化,9月上旬至10月上旬,为贡山喙蓟马发生的第二个高峰期,总虫量在9月18

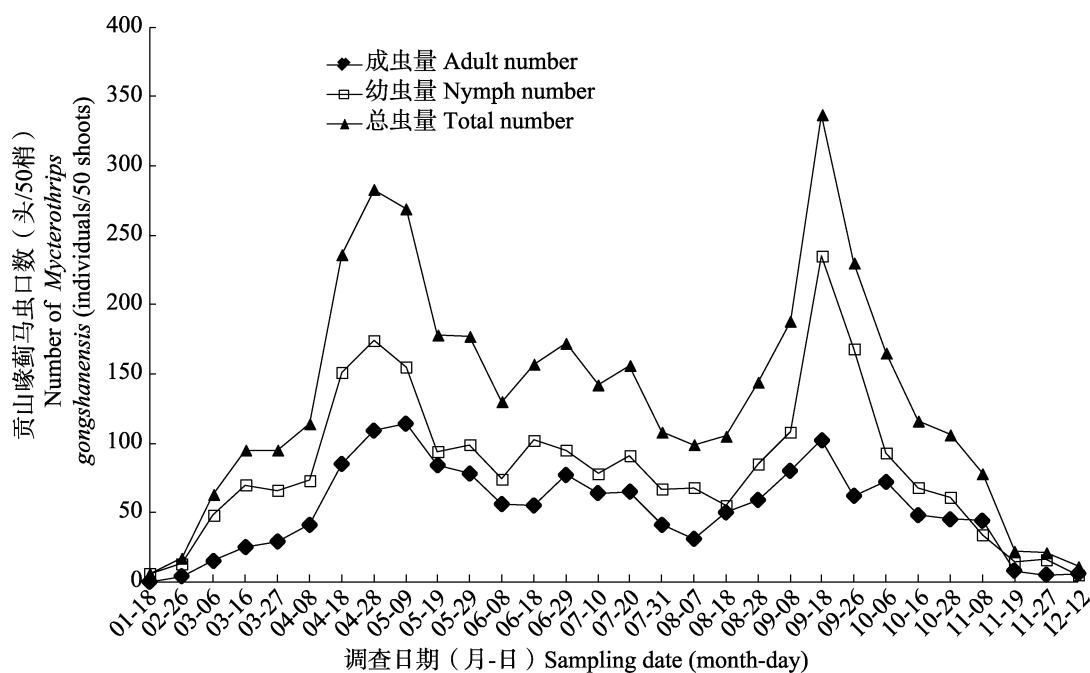


图3 贡山喙蓟马在云南临沧地区茶树嫩梢的种群发生动态

Fig. 3 Population dynamics of *Mycterothrips gongshanensis* on tea shoots in Lincang, Yunnan

日达到最高, 为 337 头/50 梢, 10 月中旬至 12 月, 种群数量持续下降。

3 讨论

本研究将形态学和 DNA 条形码技术相结合, 分析云南省茶树蓟马种类, 共鉴定出 3 科 19 属 27 种蓟马。通过对 CO I 基因序列的分析, 表明不同种类的蓟马 CO I 序列各有差异, 种间平均遗传距离达 0.269 2, 而种内平均遗传距离仅为 0.007 7。种间遗传距离是种内的 34.96 倍, 符合种间遗传距离大于种内遗传距离 10 倍的法则 (Hebert *et al.*, 2004)。同时, 频率直方图结果显示 (图 2), 种内遗传距离均小于种间遗传距离, 存在一个明显的 DNA 条形码空白区 “barcoding gap”, 表明基于 CO I 基因的条形码技术用于茶树蓟马的种类鉴定是可靠的 (Meyer and Paulay, 2005)。基于系统发育树的聚类分析认为, 如果某一未知种类与一个已知种类的基因序列在系统树上形成单系的分支, 并具有较高的支持率, 这两个种可能为同一种 (Virgilio *et al.*, 2010)。本研究基于蓟马 CO I 序列构建的贝叶斯树聚类结果与形态学分类鉴定结果一致,

每一个物种均能对应一个独立的分支, 且支持率均为 1, 进一步证实了 DNA 条形码对茶树蓟马种类鉴定的可靠性。

本次调查发现茶树花朵和嫩梢上的蓟马种类组成及优势种不同, 其中茶树花中以褐三鬃蓟马为优势种, 该调查结果与杨真等 (2017) 及 Ntirenanya 等 (2020) 相同。褐三鬃蓟马广泛分布于亚洲热带地区如印度、马来西亚、爪哇、菲律宾和中国等地, 在多种植物的花中都发现其踪迹, 尤其在茶树花中大量发生, 因此被称为“茶花蓟马” Tea-flower thrips (Rachana and Manjunath, 2020; Mound and Ng, 2021)。用盘拍法采集茶树嫩梢上蓟马时, 为避免因为碰触或震动花朵而采集到褐三鬃蓟马, 可先将花朵摘除。

茶树嫩梢上的蓟马优势种为贡山喙蓟马, 该结果与以往报道的茶树蓟马优势种为茶黄蓟马或茶棍蓟马的结果不同 (肖星等, 2013; 瞿发文等, 2017; 杜广祖等, 2018; 孟泽洪等, 2019; Li *et al.*, 2020; 罗林丽等, 2020)。李帅等 (2021) 报道贡山喙蓟马近年来在贵州 20 余个县市发生, 并在多个茶园暴发成灾, 严重影响当地夏秋茶的生产。同时贡山喙蓟马也是近年云南茶区新暴发的重要害虫, 其发生数量和范围已远超茶黄

蓟马和茶棍蓟马,成为当前云南茶区危害茶树嫩梢的最主要蓟马类害虫(Li *et al.*, 2017; 谢艳兰等, 2021)。贡山喙蓟马演替为云南茶区的主要蓟马害虫,既有自然因素影响,更重要是人为因素造成,如毁林植茶及不断扩大茶树单一作物的种植面积,显著改变了茶区气候和茶园生境小气候;大量苗木频繁调运,未对种苗严格检疫,使得小型害虫随种苗传播到了新的地区;大力推广无性系高产品种及大量施用氮肥,使得茶树新梢持嫩性增强,营养组成明显改善;常年使用广谱性杀虫剂,引起次要害虫的天敌灭亡,无压制下使得次要害虫迅速上升为主要害虫(张觉晚, 1994; 王国华等, 2010)。

贡山喙蓟马在云南临沧地区的茶园可以周年发生,发生动态为双峰型。11月中旬至2月,因天气寒冷,茶树营养芽呈休眠状态,仅见少数越冬代蓟马,种群数量维持在较低水平。3至5月气温逐渐上升,雨水偏少,又处于春茶大量萌发期,极有利于越冬代蓟马虫源的积累和增长,到4月底出现了虫口高峰。6至8月,气温偏高,降雨量为一年中最大,不利于小型昆虫蓟马的活动,但茶树生长旺盛,营养丰富,种群数量总体呈横向波动变化。9至10月茶树秋梢大量萌发,加之气温和降雨量适宜,虫口数量快速回升,出现了第二个高峰。贡山喙蓟马是典型的“r-对策”害虫,在条件适宜时种群数量增长迅速,实际生产中,应注意加强虫口密度调查,把握住防治关键时期,在2月下旬和8月下旬种群数量开始上升时,及时采取有效综合防治措施将之控制,如分批多次采摘嫩梢,带走大量虫卵,压制种群数量;发生严重时,选择茛虫威、虫螨腈、啮虫酰胺和乙基多杀菌等高效低水溶性农药(陈宗懋等, 2020);冬季喷施石硫合剂封园;同时有必要深入调查贡山喙蓟马的自然天敌,筛选出适合本地的天敌种类,以保障茶产业持续健康发展。

参考文献 (References)

- Buckman RS, Mound LA, Whiting MF, 2013. Phylogeny of thrips (Insecta: Thysanoptera) based on five molecular loci. *Systematic Entomology*, 38(1): 123–133.
- Chen ZM, Cai XM, Zhou L, Bian L, Luo ZX, 2020. Developments

- on tea plant pest control in past 40 years in China. *China Tea*, 42(1): 1–8. [陈宗懋, 蔡晓明, 周利, 边磊, 罗宗秀, 2020. 中国茶园有害生物防控 40 年. 中国茶叶, 42(1): 1–8.]
- Dang LH, Gao Z, Hu Y, 2018. DNA barcode research on the species of Phlaeothripidae from Hanzhong of Shaanxi Province. *Journal of Shaanxi University of Technology (Natural Science Edition)*, 34(2): 51–57. [党利红, 高植, 胡杨, 2018. DNA 条形码技术在陕西汉中地区管蓟马物种鉴定中的应用. 陕西理工大学学报(自然科学版), 34(2): 51–57.]
- Du GZ, Qu FW, Lu CB, Zhao YH, Xu YZ, Cun DJ, Xia JH, Zheng YQ, Chen B, 2018. Spatial patterns of *Scirtothrips dorsalis* Hood in tea plantations at different altitudes on high mountains in southwest of Yunnan. *Journal of Southern Agriculture*, 49(2): 287–294. [杜广祖, 瞿发文, 卢朝炳, 赵育惠, 许有忠, 寸待金, 夏景华, 郑亚强, 陈斌, 2018. 滇西南不同海拔高山茶园茶黄蓟马的空间格局分析. 南方农业学报, 49(2): 287–294.]
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R, 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*, 3(5): 294–299.
- Han YF, 1997. Economic Insect Fauna of China: Thysanoptera. The 55th Volume. Beijing: Science Press. 99–471. [韩运发, 1997. 中国经济昆虫志: 缨翅目. 第五十五册. 北京: 科学出版社. 99–471.]
- Huang LL, Que HY, Che F, 2014. Molecular identification of *Scirtothrips dorsalis* and related species through DNA barcoding in tea garden. *Plant Quarantine*, 28(6): 68–72. [黄丽莉, 阙海勇, 车飞, 2014. 茶园茶黄蓟马及其近似种的 DNA 条形码鉴定. 植物检疫, 28(6): 68–72.]
- Hebert PDN, Stoeckle MY, Zemlak TS, Francis CM, 2004. Identification of birds through DNA Barcodes. *PLoS Biology*, 2(10): e312.
- Iftikhar R, Ashfaq M, Rasool A, Hebert PDN, 2016. DNA barcode analysis of thrips (Thysanoptera) diversity in Pakistan reveals cryptic species complexes. *PLoS ONE*, 11(1): e0146014.
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K, 2018. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6): 1547–1549.
- Li S, Meng ZH, Lv ZY, Xiu CL, Zhang JF, Yang W, Zhou YF, 2021. Identification of a new pest of tea—*Mycterotherrips gongshanensis* (Thysanoptera: Thripidae). *Journal of Tea Communication*, 48(3): 435–442. [李帅, 孟泽洪, 吕召云, 修春丽, 张金峰, 杨文, 周玉峰, 2021. 一种茶树新害虫——贡山喙蓟马 *Mycterotherrips gongshanensis* 的鉴定. 茶叶通讯, 48(3): 435–442.]

- Li XY, Qi PY, Zhang QP, Zhang RF, Chen Z, Jin LH, Song BA, 2020. Introduction of two predators to control *Dendrothrips minowai* (Thysanoptera: Thripidae) in tea (*Camellia sinensis*) plantations in China. *Biocontrol Science and Technology*, 30(5): 1–11.
- Li YJ, Li ZY, Zhang HR, 2017. Two new species of *Mycterothrips* (Thysanoptera: Thripidae) from southwestern China. *Zootaxa*, 4353(2): 371–377.
- Luo LL, Meng ZH, Li S, Zhao XL, Zhou LN, He SL, Zhou YF, 2020. Genetic diversity among populations of *Dendrothrips minowai* Priesner in Guizhou based on mtDNA CO I and mtDNA CO II molecular markers. *Journal of Southern Agriculture*, 51(7): 1684–1692. [罗林丽, 孟泽洪, 李帅, 赵兴丽, 周罗娜, 贺圣凌, 周玉锋, 2020. 基于 mtDNA CO I 和 mtDNA CO II 分子标记的贵州省茶棍蓟马种群遗传多样性分析. 南方农业学报, 51(7): 1684–1692.]
- Meng ZH, Li S, Yang W, Zhou YF, 2019. *Dendrothrips minowai*, a rasping-sucking tea pest. *China Tea*, 41(12): 20–22. [孟泽洪, 李帅, 杨文, 周玉锋, 2019. 锉吸有痕的茶棍蓟马. 中国茶叶, 41(12): 20–22.]
- Meyer CP, Paulay G, 2005. DNA barcoding: Error rates based on comprehensive sampling. *PLoS Biol.*, 3(12): 2229–2238.
- Mound LA, Kibby G, 1998. Thysanoptera: An Identification Guide. UK: CAB International. 1–70.
- Mound LA, Ng YF, 2021. Studies on the genus *Lefroyothrips*, with new records from Malaysia, New Caledonia and a new species from Australia (Thysanoptera, Thripidae). *Zootaxa*, 4927(4): 567–575.
- Nei M, Kumar S, 2000. Molecular Evolution and Phylogenetics. New York: Oxford University Press. 33–35.
- Ntirenganya E, Xie YL, Mao JM, Mehboob H, Zhang HR, 2020. Species richness and seasonal abundance of thrips (Thysanoptera) on different tea cultivars in Xishuangbanna, Yunnan Province, China. *International Journal of Entomology Research*, 5(6): 197–203.
- Okada T, Kudô I, 1982. Relative abundance and phenology of Thysanoptera in a tea field. *Jap. J. Appl. Ent. Zool.*, 26(2): 96–102.
- Qiao WN, Wang FH, Zhang AB, Min L, Zang GF, 2012. Application of DNA barcoding technology for species identification of common thrips (Insecta: Thysanoptera) in China. *Acta Entomologica Sinica*, 55(3): 344–356. [乔玮娜, 万方浩, 张爱兵, 闵亮, 张桂芬, 2012. DNA 条形码技术在田间常见蓟马种类识别中的应用. 昆虫学报, 55(3): 344–356.]
- Qu FW, Du GZ, Lu CB, Zhao YH, Xu YZ, Cun DJ, Xia JH, Zheng YQ, Chen B, 2017. Population dynamics of thrips in mountain tea gardens at different altitudes in Southwest Yunnan. *Yunnan Nongye Keji*, 2017(4): 17–19. [瞿发文, 杜广祖, 卢朝炳, 赵育惠, 许有忠, 寸待金, 夏景华, 郑亚强, 陈斌. 滇西南不同海拔高山茶园蓟马种群动态研究. 云南农业科技, 2017(4): 17–19.]
- Rachana RR, Kenchannavar M, 2020. A new species of the genus *Lefroyothrips* (Thysanoptera: Thripidae) from India. *Zootaxa*, 4896(4): 591–594.
- Ronquist F, Huelsenbeck JP, 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12): 1572–1574.
- Thrips Wiki, 2021. ThripsWiki-providing information on the World's thrips. http://thrips.info/wiki/Main_Page.
- Tyagi K, Kumar V, Singha D, Chandra K, Laskar BA, Kundu S, Chakraborty R, Chatterjee S, 2017. DNA barcoding studies on thrips in India: Cryptic species and species complexes. *Scientific Reports*, 7(1): 1–14.
- Virgilio M, Backeljau T, Nevado B, Meyer MD, 2010. Comparative performances of DNA barcoding across insect orders. *BMC Bioinformatics*, 11(1): 1–10.
- Wang GH, Xia SM, Han BY, 2010. Investigation on pest fauna in tea gardens and succession trend of dominant species in Guizhou Province. *Journal of Anhui Agricultural University*, 37(3): 411–416. [王国华, 夏绍涓, 韩宝瑜, 2010. 贵州茶园害虫区系考查及优势种演替趋势分析. 安徽农业大学学报, 37(3): 411–416.]
- Xiao X, Liu DH, Yin LQ, Xia R, 2013. Occurrence and control of *Scirtothrips dorsalis* in tea garden. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2013(12): 118. [肖星, 刘德和, 殷丽琼, 夏锐, 2013. 茶园茶黄蓟马的发生与防治. 现代农业科技, 2013(12): 118.]
- Xie YL, Zhang HR, Li ZY, 2019. Analysis of genetic differentiation among geographic populations of *Helionothrips mube* (Thysanoptera: Thripidae) in southwestern China based on mitochondrial CO I gene. *Acta Entomologica Sinica*, 62(3): 370–380. [谢艳兰, 张宏瑞, 李正跃, 2019. 基于线粒体 CO I 基因的中国西南地区木领针蓟马地理种群的遗传分化分析. 昆虫学报, 62(3): 370–380.]
- Xie YL, Wei LC, Ma RM, Zhang HR, 2021. Age-stage, two-sex life table of *Mycterothrips gongshanensis* (Thysanoptera: Thripidae), a new outbreak pest in tea gardens in Yunnan, southwestern China. *Acta Entomologica Sinica*, 64(11): 1305–1312. [谢艳兰, 韦玲长, 马润敏, 张宏瑞, 2021. 云南茶园暴发性新害虫贡山

- 喙蓟马年龄-龄期两性生命表研究. 昆虫学报, 64(11): 1305–1312.]
- Xie ZL, 1987. Thrips in tea garden and its damage. *China Tea*, 1987(6): 22–23. [谢振伦, 1987. 茶园蓟马及其为害. 中国茶叶, 1987(6): 22–23.]
- Yang Z, Li J, Xu SJ, Shi FH, Li ZY, Zhang HR, 2017. Species of thrips on tea plant and control effect of common pesticides against thrips. *Journal of Southern Agriculture*, 48(5): 831–836. [杨真, 李建勋, 徐淑娟, 石凤红, 李正跃, 张宏瑞, 2017. 茶树蓟马种类调查及常见农药对蓟马的田间防控效果. 南方农业学报, 48(5): 831–836.]
- Zhang HR, Okajima S, Mound LA, 2006. Collecting and slide preparation methods of thrips. *Chinese Bulletin of Entomology*, 43(5): 725–728. [张宏瑞, Okajima S, Mound LA, 2006. 蓟马采集和玻片标本的制作. 昆虫知识, 43(5): 725–728.]
- Zhang JW, 1994. Formation, succession and integrated control of tea pest population. *Guangxi Tropical Agriculture*, 1994(3): 38–40. [张觉晚, 1994. 茶树害虫种群的形成演替及综合防治. 广西热作科技, 1994(3): 38–40.]
- Zhang SM, Mound LA, Hastings A, 2020. Thysanoptera-Thripidae Chinensis. Thripidae genera from China. Lucidcentral.org, Identic Pty Ltd, Queensland, Australia.



圆臀大黽蝽 *Aquarius paludum* (Fabricius)

圆臀大黽 (mǐn) 蝽是半翅目 (Hemiptera) 黽蝽科 (Gerridae) 昆虫。黽蝽科昆虫是水生昆虫, 也称为水黽, 全世界近 500 种, 我国已知种类有 60 多种, 圆臀大黽蝽是最常见的种类之一。圆臀大黽蝽足的末端生有拒水毛, 适于在水面快速行走。本期封面照片于 2020 年 7 月 25 日拍摄于天津市宝坻区朱良庄。

(张润志, 中国科学院动物研究所)