

Chelex-100 法提取甘薯小象甲 DNA 及云南地区甘薯小象甲的分子鉴定

徐可成¹, 董跃丽¹, 杨子祥², 韦永贵³, 黄琼^{1*}, 孙跃先^{1*}

(1. 云南农业大学植物保护学院, 昆明 650201; 2. 云南省农业科学院热区生态农业研究所, 元谋 651300; 3. 文山州农业科学院, 文山 663099)

摘要 甘薯小象甲是国内外重要的检疫性害虫,除本身为害薯块外,引起的伤口还会诱致病菌侵入,使受害薯块发生恶臭和苦味无法食用。准确鉴定云南地区的甘薯小象甲,特别是研究其遗传变异可为检疫提供依据。本研究采集了云南元谋县甘薯小象甲,采用 Chelex-100 法快速提取甘薯小象甲基因组 DNA,分别对雌雄成虫 rDNA ITS-1 序列进行系统发育分析,首次发现云南元谋县的甘薯小象甲属于东亚分支的东南亚亚支,与我国之前报道的甘薯小象甲属于东亚分支的东北亚亚支不同,说明云南元谋县的甘薯小象甲种群来源与中国广东、福建、浙江和重庆的种群来源不同。

关键词 甘薯小象甲; Chelex-100 法; ITS-1; 系统发育

中图分类号: S 435.315 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn.0529-1542.2017.03.026

DNA extraction from *Cylas formicarius* (Coleoptera: Brentidae) by Chelex-100 method and molecular identification of *Cylas formicarius* in Yunnan

Xu Kecheng¹, Dong Yueli¹, Yang Zixiang², Wei Yonggui³, Huang Qiong¹, Sun Yuexian¹

(1. College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. Tropical Eco-agriculture Institute of Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Yuanmou 651300, China;

3. Yunnan Wenshan Academy of Agricultural Sciences, Wenshan 663099, China)

Abstract Sweet potato weevil (*Cylas formicarius*) is an important quarantine pest in the world. It not only harms sweet potato tuber but also makes wounds that induced pathogen to infect, which caused infected sweet potato to send out offensive odor and turn bitter. Accurate identification of sweet potato weevils in Yunnan, especially its genetic variation, can provide a basis for quarantine. In this research, we collected sweet potato weevils from Yuanmou County, Yunnan Province, applied a rapid method for extracting the DNA of *C. formicarius* by using Chelex-100 and analyzed the ITS-1 sequence of adult female and male insects. We first find that sweet potato weevils in Yuanmou County belong to the southeast subclade of the East Asia clade. This result differs from the previous report that sweet potato weevils belong to the Northeast subclade of the East Asia clade, suggesting that sweet potato weevils populations in Yuanmou County differs from those in Guangdong, Fujian, Zhejiang and Chongqing.

Key words *Cylas formicarius*; Chelex-100 method; ITS-1; phylogeny

甘薯 *Ipomoea batatas* (L.) Lam. 是旋花科番薯属一年生或多年生块根作物,其分布广泛、适应性强,经济价值高,广泛种植于世界上 100 多个国家^[1]。我国是世界上最大的甘薯生产国,每年种植面积约 600 万 hm²,年生产量约 1.2 亿 t,在我国粮食生产中的面积仅次于水稻、小麦和玉米,位居第 4 位^[2]。

甘薯小象甲 *Cylas formicarius* 又称甘薯蚁象甲,隶属鞘翅目锥象科,是国内外重要的检疫性害虫^[2]。甘薯小象甲成虫啃食甘薯的嫩芽梢、茎蔓与叶柄的皮层,并将块根咬食成许多小孔,严重影响甘薯的生长发育和薯块的质量与产量。其幼虫钻蛀匿居于块根或薯蔓内,不但能抑制块薯的发育膨大,且

收稿日期: 2016-07-09 修订日期: 2016-08-30

基金项目: 国家自然科学基金(31270067)

致谢: 感谢河北大学生命科学院陈书龙研究员提供的中国 6 个地区的甘薯小象甲 ITS-1 序列。

* 通信作者 E-mail: huangqiong88hs@163.com; sunyx82114@gmail.com

其排泄物充塞于潜道中,助长病原侵染,导致薯块腐烂霉坏,变黑发臭^[3-4]。

ITS 序列在昆虫学、植物学和分类学方面具有重要应用价值^[5-6]。其作为一种分子标记,主要应用于昆虫的品系鉴定、亲缘关系鉴定及系统发育、进化与扩散及昆虫与生态环境的关系等方面^[7-14]。

昆虫基因组 DNA 的提取方法有很多,传统的酚/氯仿抽提法是 DNA 提取的经典方法,但是该方法操作步骤复杂、耗时长,容易产生交叉污染,残留在 DNA 溶液中的有机物质对 DNA 聚合酶有抑制作用。试剂盒法相对来说操作简单、高效,提取的 DNA 质量较高,但价格昂贵,提取量少。安瑞生等^[15]和陈保锋等^[16]分别通过改变研磨方式以及改进蛋白酶 K 法提高昆虫基因组 DNA 提取效率,但是操作仍较为复杂。另外,酚、氯仿等有机溶剂易造成环境污染,有损操作者健康。因此寻求一种简单、快速并且高效的甘薯小象甲 DNA 提取方法,显得尤为重要。

Chelex-100 是一种由苯乙烯和苯二乙烯组成的独特螯合树脂,可以高选择性地结合多价阳离子,去除样品和缓冲液中的金属离子,避免煮沸过程中模板 DNA 的降解。目前 Chelex-100 法广泛应用于医学微量血痕 DNA^[17]和微生物 DNA 提取^[18],以及植物转基因检测模板 DNA 的制备^[19],而很少用于昆虫 DNA 的提取,对于甘薯小象甲 DNA 的提取更是未见报道。本试验首次利用 Chelex-100 法快速提取甘薯小象甲 DNA,使其 ITS 基因的 PCR 扩增更加简便、省时。

目前关于甘薯小象甲研究主要集中在生物学、发生特点调查^[20-21]及综合防治方面^[22-23],对于甘薯小象甲的 rDNA-ITS 序列研究较少,Kiyohisa 等^[24]基于 rDNA-ITS 序列对世界主要疫区的甘薯小象甲作了遗传变异研究,国内仅有于海滨等^[25]对中国 4 个省市 6 个地区的甘薯小象甲 rDNA-ITS 序列进行了分析,关于云南甘薯小象甲种群的 ITS 序列尚未有报道。为了明确云南的甘薯小象甲的遗传变异及来源,本研究采集了云南元谋县的甘薯小象甲,分别对雌雄成虫 rDNA ITS-1 序列进行了分析。

1 材料与方法

1.1 甘薯小象甲

甘薯小象甲采自云南省元谋县,在实验室内采用甘薯块根饲养多代,饲养条件如下:温度为 $(28 \pm 0.5)^\circ\text{C}$,相对湿度为 $75\% \pm 5\%$,光周期为 L//D=0 h//24 h。分别

取雌雄成虫各 3 头用于测序及系统发育分析。

1.2 基因组 DNA 的提取

1.2.1 Chelex-100 法提取

取甘薯小象甲成虫除去鞘翅,用灭菌 ddH₂O 清洗干净后在灭菌滤纸上干燥,干燥后取单头甘薯小象甲置于 1.5 mL 的离心管中,用灭菌玻璃棒充分研磨,加入 150 μL 悬浮好的 5% Chelex-100 溶液,100 $^\circ\text{C}$ 金属浴 5 min,漩渦溶液 5 s,12 000 r/min 离心 5 min,上清液即可作为 PCR 反应的 DNA 模板。

1.2.2 试剂盒提取

取甘薯小象甲成虫用 ddH₂O 清洗干净后在滤纸上干燥,按基因组 DNA 提取试剂盒(北京全式金生物技术有限公司生产)说明提取 DNA。

1.3 试验处理

1.3.1 Chelex-100 法提取和试剂盒提取对比

分别采用 Chelex-100 法和试剂盒法提取单头甘薯小象甲,各重复 3 次。

1.3.2 不同保存方式标本提取对比

分别以新鲜活虫、干制标本以及 75% 乙醇保存的甘薯小象甲为材料用 Chelex-100 法提取 DNA,各重复 3 次。

1.3.3 模板保存时间的探索

将单头提取的甘薯小象甲 DNA 模板保存在 -20 $^\circ\text{C}$ 冰箱中,分别对保存 0、30、60、90 d 的模板进行 PCR 扩增。

1.4 ITS-1 区 PCR 扩增

ITS-1 区 PCR 扩增引物:正向 5'-TTG ATT ACG TCC CTG CCC TTT-3';反向 5'-ACG AGC CGA GTG ATC CAC CG-3'^[18],引物由上海生工生物工程有限公司合成。扩增反应在 30 μL 反应体系中进行:11 μL ddH₂O,15 μL 2 \times Taq PCR StarMix,正反引物各 1.5 μL ,DNA 模板 1 μL 。扩增条件为:94 $^\circ\text{C}$ 预变性 5 min;94 $^\circ\text{C}$ 变性 60 s,55 $^\circ\text{C}$ 退火 90 s,72 $^\circ\text{C}$ 延伸 90 s,循环 35 次;最后 72 $^\circ\text{C}$ 延伸 10 min,置于 4 $^\circ\text{C}$ 冰箱保存。

取 2 μL PCR 扩增产物和 3 μL 核酸染料混合,于 1.2% 的琼脂糖凝胶上电泳检测,电泳缓冲液为 0.5 \times TBE,在 120 V 电压下进行 45 min,置于 UPV 紫外成像系统上观察成像,并拍照。目的条带的纯化、测序和序列正反拼接均由华大基因完成。

1.5 数据分析

将测得的 6 个甘薯小象甲 ITS-1 序列在 NCBI 上进行比对,选取 GenBank 中同源性较高的甘薯小象甲以及中国 6 个地区甘薯小象甲的 ITS-1 序列

(表 1),采用 MEGA 6.06 进行同源性比较,以稻水象甲序列为外群,用 NJ 法构建系统发育树,遗传距

离采用 p-distance 法,空位成对删除,用自展法对构建的系统发育树进行内部分支检验,重复 1 000 次。

表 1 甘薯小象甲来源、ITS-1 序列长度以及 GenBank 登录号¹⁾

Table 1 Origins of *Cylas formicarius* used in this study, ITS-1 sequence lengths and GenBank accession number

采集地点 Collection site	标本编号 Sample number	序列长度/bp Sequence length	基因登录号 Accession no.
日本高知县 Kouchi, Japan	Kouchi, 1, 2	571, 564	AB197879, AB197880
日本屋久岛 Yakushima, Japan	Yakushima, 3	566	AB197881
日本中之岛 Nakanoshima, Japan	Nakanoshima, 4	567	AB197882
日本宝岛 Takarajima, Japan	Takarajima, 5	566	AB197883
日本宫古岛 Miyakojima, Japan	Miyakojima, 6	574	AB197886
日本石垣岛 Ishigakijima, Japan	Ishigakijima, 7	566	AB197887
日本波照间岛 Haterumajima, Japan	Haterumajima, 8	564	AB197889
日本与那国岛 Yonagunijima, Japan	Yonagunijima, 9	571	AB197890
日本父岛列岛 Chichijima, Japan	Chichijima, 10	565	AB244586
日本东京小笠原群岛 Baijima, Japan	Baijima, 11	565	AB244588
日本向岛 Mukojima, Japan	Mukojima, 12	567	AB244587
中国台湾嘉义市 Chiayi, China	Chiayi, 13, 14	565, 565	AB197891, AB244589
中国台湾台南市 Tainan, China	Tainan, 15, 16	564, 562	AB197892, AB197893
越南河内市 Hanoi, Vietnam	Hanoi, 17, 18	567, 567	AB197895, AB197896
越南胡志明市 Ho Chi Minh, Vietnam	Ho Chi Minh, 19	567	AB197897
菲律宾吕宋岛 Luzon, Philippines	Luzon, 20	568	AB197898
印度尼西亚苏门答腊岛 Sumatra, Indonesia	Sumatra, 21	557	AB197900
泰国那坤巴统 Nakhon Pathom, Thailand	Nakhon Pathom, 22	558	AB197899
美国夏威夷岛 Hawaii, USA	Hawaii, 23	567	AB197905
美国佐治亚州 Georgia, USA	Georgia, 24, 25	568, 566	AB197904, AB244591
圣基茨和尼维斯圣基茨岛 St. Kitts, Saint Kitts and Nevis	St. Kitts, 26	565	AB244592
印度奥里萨邦 Orissa, India	Orissa, 27, 28	587, 582	AB197901, AB244593
印度喀拉拉邦 Kerala, India	Kerala, 29, 30	587, 583	AB197902, AB197903
中国广东省 Guangdong, China	Guangdong, 31	567	AB197894
广东省湛江市 Zhanjiang, China	Zhanjiang, 32	569	—
广东省广州市 Guangzhou, China	Guangzhou, 33	565	—
福建省福州市 Fuzhou, China	Fuzhou, 34	569	—
福建省龙岩市 Longyan, China	Longyan, 35	566	—
浙江省 Zhejiang, China	Zhejiang, 36	570	—
重庆市 Chongqing, China	Chongqing, 37	566	—
云南省元谋县 Yuanmou, China	Yunnan, 38, 39, 40	558, 558, 558	—
云南省元谋县 Yuanmou, China	Yunnan, 41, 42, 43	560, 560, 560	—

1) “—”表示暂无基因登录号。

“—” indicate no accession number.

2 结果与分析

2.1 Chelex-100 法提取与试剂盒提取对比

电泳检测结果显示(图 1:泳道编号 1~6):试剂盒提取单头甘薯小象甲 DNA 经 ITS-1 PCR 扩增,电泳条带较暗,其中一个重复没有条带,而 Chelex-100 法则均获得清晰明亮的电泳条带,表明试剂盒提取单头甘薯小象甲基因 DNA 的效果没有 Chelex-100 法理想,甚至有可能存在失败的情况,而 Chelex-100 法可抽提到适于 PCR 扩增反应的 DNA 模板,可为后续 PCR 试验提供足量的模板。

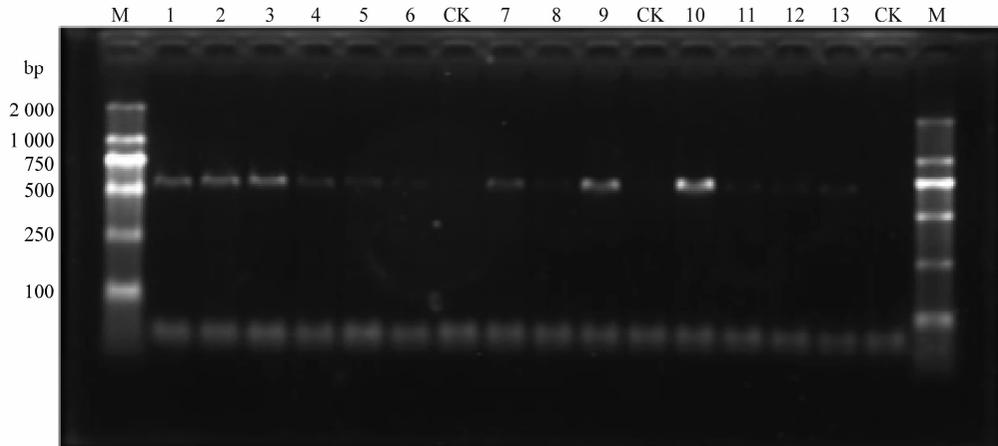
2.2 不同保存条件标本 Chelex-100 法抽提效果对比

结果表明(图 1:泳道编号 7~9)3 种保存方式

保存的样品采用 Chelex-100 法均能抽提到有效的 DNA 模板,但是电泳条带亮度显示:新鲜活虫>干制标本>75%乙醇保存标本。

2.3 模板保存时间对 PCR 效果的影响

Chelex-100 使用说明上指出该法所获得模板应当于 1 周内使用,保存时间较短。而本试验结果显示(图 1:泳道编号 10~13):置于一 20℃ 下保存 1~3 个月后的模板经 PCR 扩增,仍能获得较为清晰的电泳条带,但是电泳条带的亮度变暗,表明 Chelex-100 法提取的单头甘薯小象甲 DNA 模板在一 20℃ 下可以保存较长的时间。



M: DNA Marker 2000; CK: 对照; 1-3: Chelex-100法提取; 4-6: 试剂盒提取; 7: 干制标本; 8: 75%乙醇浸制标本; 9: 新鲜活虫; 10-13: DNA保存时间分别为0、30、60、90 d

M: DNA Marker 2000; CK: Control; 1-3: Chelex-100 method; 4-6: DNA extraction by kit; 7: Dry material; 8: Socked material in 75% ethanol; 9: Fresh material; 10-13: DNA stored for 0, 30, 60, and 90 days

图 1 不同处理下甘薯小象甲 rDNA ITS-1 序列 PCR 扩增凝胶电泳

Fig. 1 Results of PCR amplification of rDNA ITS-1 sequences from *Cylas formicarius* by different treatments

2.4 甘薯小象甲 rDNA ITS-1 系统发育分析

由于有些地区的甘薯小象甲序列相似度高,差

异不明显,因此系统发育树的部分分支自展值偏低,但是 3 个地域性分支的自展值都在 90 以上(图 2)。

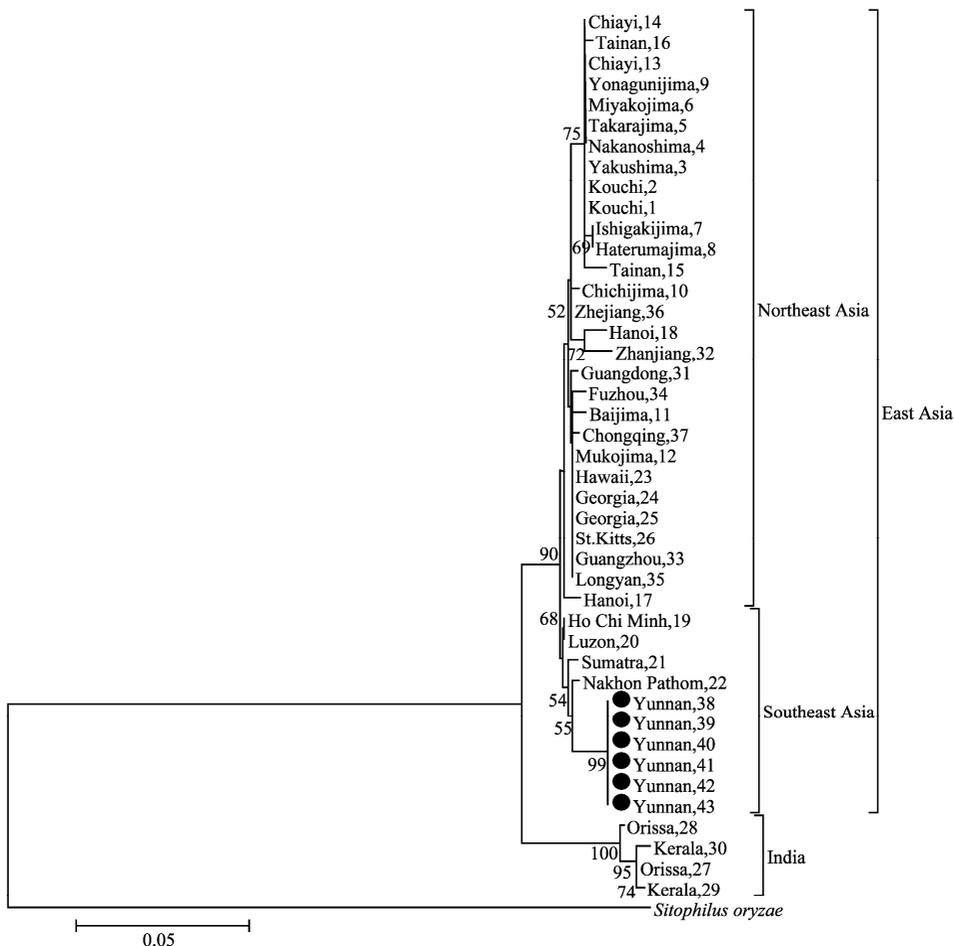


图 2 基于 NJ 法构建的甘薯小象甲 rDNA ITS-1 序列的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree based on ITS-1 sequences of *Cylas formicarius* from different areas using the NJ method

该树表明甘薯小象甲被分为东亚分支和印度分支两大主支,东亚分支又分为东北亚亚支和东南亚亚支,其中东北亚亚支包括日本各地区,中国台湾、浙江、广东、福建和重庆地区,越南河内,美国佐治亚州、夏威夷岛以及圣基茨和尼维斯的圣基茨岛;东南亚亚支包括越南胡志明市,菲律宾吕宋岛,印度尼西亚苏门答腊岛,泰国以及中国云南地区,其中云南地区 3 个甘薯小象甲序列长度和泰国一致,且雌雄成虫的 ITS-1 序列长度并无明显差异,同源性达到 100%。

3 结论

与传统酚/氯仿抽提法相比,Chelex-100 法未使用苯酚去除蛋白,因此 DNA 纯度不高,但 PCR 对模板纯度的要求较低,Chelex-100 法获得的 DNA 足以扩增出所需的基因片段,因此结果是可靠的^[26]。本试验首次利用 Chelex-100 法快速提取甘薯小象甲 DNA,与试剂盒法需裂解 3 h 相比较,Chelex-100 法提取的整个过程只需 15 min 左右,使其 ITS 基因的 PCR 扩增更加简便、省时,克服了利用传统形态学鉴定的困难,在快速鉴定甘薯小象甲以及大规模提取其基因组 DNA 等方面具有重要意义。但是 PCR-RFLP 等精细分子试验以及其他昆虫的基因组 DNA 的提取能否采用 Chelex-100 法还有待进一步的研究。

甘薯小象甲起源于印度^[27],由于其飞行能力差^[28],主要通过人为运输带虫甘薯传播^[27]。经与国内外的甘薯小象甲序列进行比较分析,研究结果与 Kiyohisa 等^[24]的研究结果基本一致,甘薯小象甲可以分成两个明显的地域性主支,即印度分支和东亚分支,东亚分支又分为东北亚亚支和东南亚亚支。此外,印度分支和东亚分支的序列长度差异较大,东亚分支的甘薯小象甲 ITS-1 序列长度范围在 557~574 bp,明显短于印度地区的甘薯小象甲。其中云南地区的 3 个甘薯小象甲 ITS-1 序列长度和泰国地区的一致,且位于东南亚亚支的同一分支上,由此说明云南地区 3 个甘薯小象甲很有可能是由泰国传入的。与于海滨等^[25]的报道不同,他们的研究表明中国甘薯小象甲至少有两个来源,但都处于东北亚亚支上。本研究首次发现中国云南地区的甘薯小象甲处于东南亚亚支上,也就是说,云南元谋县的甘薯小

象甲种群来源与中国广东、福建、浙江和重庆的不同。至于云南的甘薯小象甲是否还存在其他的遗传变异,还有待更多地区的标本进行分析。

参考文献

- [1] 陆漱韵,刘庆昌,李惟基. 甘薯育种[M]. 北京:中国农业出版社,1998.
- [2] 张世祎, Talekar N S, 李正跃,等. 甘薯小象甲成虫对甘薯植株不同部位的选择行为[J]. 云南大学学报(自然科学版), 2008, 30(S1): 127-129.
- [3] 张裕君,刘跃庭,廖芳,等. DNA 条形码技术研究进展及其在植物检疫中的应用展望[J]. 中国植保导刊, 2010, 30(4): 15-17.
- [4] Elder J R, Turner B J. Concerted evolution of repetitive DNA sequences in eukaryotes [J]. Quarterly Review of Biology, 1995, 70: 297-319.
- [5] 王建波,张文驹,陈家宽. 核 rDNA 的 ITS 序列在被子植物系统与进化研究中的应用[J]. 植物分类学报, 1999, 37(4): 407-416.
- [6] 任国栋,宁靖. 基于 18S rDNA 的全变态类昆虫系统发育分析[J]. 科技导报, 2011, 29(22): 38-41.
- [7] Manonmani A, Townson H, Adeniran T, et al. rDNA-ITS2 polymerase chain reaction assay for the sibling species of *Anopheles fluviatilis* [J]. Acta Tropica, 2001, 78(1): 3-9.
- [8] 周水森,汤林华,顾政诚,等. 不同地区微小按蚊 rDNA ITS2 序列差异[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2002, 20(1): 29-31.
- [9] Alvarez J M, Hoy M A. Evaluation of the ribosomal ITS2 DNA sequences in separating closely related populations of the parasitoid *Ageliaspis* (Hymenoptera: Encyrtidae) [J]. Annals of the Entomological Society of America, 2002, 95: 250-256.
- [10] De Barro P J, Driver F, Trueman J, et al. Phylogenetic relationships of world populations of *Bemisia tabaci* (Gennadius) using ribosomal ITS1 [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2000, 16: 29-36.
- [11] Honda J Y, Nakashima Y, Yanase T, et al. Use of the internal transcribed spacer (ITS-1) region to infer *Orius* (Hemiptera: Anthocoridae) species phylogeny [J]. Applied Entomology Zoology, 1998, 33: 567-571.
- [12] Marinucci M, Romi R, Mancini P, et al. Phylogenetic relationships of seven palearctic members of the *maculipennis* complex inferred from ITS2 sequence analysis [J]. Insect Molecular Biology, 1999, 8(4): 469-480.
- [13] Thomson L J, Rundle B J, Carew M E, et al. Identification and characterization of *Trichogramma* species from south-eastern Australia using the internal transcribed spacer 2 (ITS-2) region of the ribosomal gene complex [J]. Entomologia Experimentalis et Applicata, 2003, 106: 235-240.
- [14] Perrin A, Cetre-sossah C, Mathieu B. Phylogenetic analysis of *Culi-*

- coides* species from France based on nuclear ITS1 - rDNA sequences [J]. *Medical and Veterinary Entomology*, 2006, 20: 219 - 228.
- [15] 安瑞生, 谭声江, 陈晓峰. 小型昆虫 DNA 提取时匀浆方法的改进[J]. *昆虫知识*, 2002, 39(4): 311 - 312.
- [16] 陈保锋, 章欢, 申跃武, 等. 一种简洁实用的昆虫基因组 DNA 提取方法[J]. *医学动物防治*, 2013, 29(6): 647 - 648.
- [17] 许金朋, 郝永清. Chelex-100 法直接提取乳样中奶牛乳房炎主要致病菌 DNA 方法的建立[J]. *中国畜牧兽医*, 2014, 41(11): 25 - 29.
- [18] 周月琴, 朱伟, 刘志萍, 等. 用 Chelex-100 快速提取微量血痕中的 DNA[J]. *复旦学报*, 2003, 30(4): 379 - 380.
- [19] 王永, 张莉, 兰青阔, 等. Chelex-100 快速提取用于转基因检测 DNA 模板的研究[J]. *生物技术通报*, 2008(2): 143 - 145.
- [20] 叶明鑫. 甘薯小象甲发生特点调查与原因分析[J]. *中国农学通报*, 2015, 31(4): 195 - 199.
- [21] 潘初沂. 闽东南地区甘薯小象甲发生为害特点初探[J]. *福建农业科技*, 2006(5): 59 - 61.
- [22] 徐三勤, 王海富, 陈时伟. 甘薯小象甲的发生规律与防控技术[J]. *现代园艺*, 2015(7): 98 - 99.
- [23] 黄立飞, 黄生辉, 房伯平, 等. 甘薯小象甲的防治研究进展[J]. *广东农业科学*, 2011(S1): 77 - 79.
- [24] Kiyohisa K, Tuyosi S, Koji K, et al. Genetic variation of sweet potato weevils, *Cylas formicarius* (Fabricius) (Coleoptera: Brentidae), in main infested areas in the world based upon the internal transcribed spacer-1 (ITS-1) region [J]. *Applied Entomology and Zoology*, 2007, 42(1): 89 - 96.
- [25] 于海滨, 沈卫红, 马娟, 等. 中国甘薯小象甲的 rDNA ITS-1 遗传变异及入侵来源研究[J]. *中国农学通报*, 2011, 27(18): 282 - 287.
- [26] Jinks DC, Minter M, Tarver DA, et al. Molecular genetic diagnosis of sickle cell disease using dried blood specimens on blotters used for newborn screening [J]. *Human Genetics*, 1989, 81(4): 363 - 366.
- [27] Wolfe G W. The origin and dispersal of the pest species of *Cylas* with a key to the pest species groups of the world [M]// Sweet potato pest management, a global perspective. Boulder: Westview Press, 1991.
- [28] Moriya S. A preliminary study on the flight ability of the sweet potato weevil, *Cylas formicarius* (Fabricius) (Coleoptera: Apionidae) using a flight mill [J]. *Applied Entomology Zoology*, 1995, 30: 244 - 246.
- (责任编辑: 杨明丽)
-
- (上接 121 页)
- [6] 方小端, 吴伟南, 刘慧, 等. 西方花蓟马的生物防治研究进展[J]. *中国生物防治学报*, 2008, 24(4): 363 - 368.
- [7] 张帆, 唐斌, 陶淑霞, 等. 中国植绥螨规模化饲养及保护利用研究进展[J]. *昆虫知识*, 2005, 42(2): 139 - 143.
- [8] 江高飞, 陈飞, 李晓娇, 等. 巴氏新小绥螨的研究进展[J]. *中国南方果树*, 2012, 41(2): 36 - 40.
- [9] 徐学农, 吕佳乐, 王恩东. 捕食螨繁育与应用[J]. *中国生物防治学报*, 2015, 31(5): 647 - 656.
- [10] 张辉元, 马明, 董铁, 等. 胡瓜钝绥螨对苹果全爪螨的生物防治效果[J]. *应用生态学报*, 2010 (1): 191 - 196.
- [11] 张东旭. 利用巴氏新小绥螨防治西花蓟马和截形叶螨的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2012.
- [12] 吴坤君, 盛承发, 龚佩瑜. 捕食性昆虫的功能反应方程及其参数的估算[J]. *昆虫知识*, 2004, 41(3): 267 - 269.
- [13] McMurtry J A. The use of phytoseiids for biological control: progress and future prospects [C]//Recent Advances in Knowledge of the Phytoseiidae: Proceedings of a Formal Conference of the Acarology Society of America Held at the Entomological Society of America Meeting, San Diego, 1982: 23 - 48.
- [14] Huffaker C B, Messenger P S, DeBach P. The natural enemy component in natural control and the theory of biological control [M]//Biological Control. Springer US, 1971: 16 - 67.
- [15] Schenk D, Bacher S. Functional response of a generalist insect predator to one of its prey species in the field [J]. *Journal of Animal Ecology*, 2002, 71(3): 524 - 531.
- [16] Fan Y, Pettit F L. Functional response of *Neoseiulus barkeri* Hughes on two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) [J]. *Experimental & Applied Acarology*, 1994, 18(10): 613 - 621.
- [17] 陈耀年, 汝阳, 尚素琴. 巴氏新小绥螨对二斑叶螨混合抗性品系和敏感品系的捕食功能[J]. *中国生物防治学报*, 2016, 32(4): 428 - 433.
- [18] 宋树贤, 刘光华, 辛天蓉, 等. 巴氏新小绥螨对朱砂叶螨的捕食效能[J]. *南昌大学学报(理科版)*, 2012, 36(5): 486 - 489.
- [19] 邹志文, 陈芬, 夏斌, 等. 几种钝绥螨 ITS 基因片段的序列分析[J]. *中国农业科学*, 2011, 44(23): 4945 - 4951.
- [20] 崔晓宁, 张亚玲, 沈慧敏, 等. 巴氏钝绥螨对截形叶螨的捕食作用[J]. *植物保护学报*, 2011, 38(6): 575 - 576.
- [21] 尚素琴, 郑开福, 张新虎. 巴氏钝绥螨对二斑叶螨的捕食功能反应[J]. *植物保护学报*, 2015 (3): 316 - 320.
- [22] 凌鹏, 夏斌, 李朋新, 等. 巴氏钝绥螨对柑桔全爪螨的捕食效能[J]. *蛛形学报*, 2008, 17(1): 29 - 34.
- [23] 李朋新, 夏斌, 舒畅, 等. 巴氏钝绥螨对椭圆食粉螨的捕食效能[J]. *植物保护*, 2008, 34(3): 65 - 68.
- [24] 罗育发, 钟八莲. 巴氏新小绥螨和尼氏真绥螨的耐饥能力及饥饿对其雌成螨捕食作用的影响[J]. *中国南方果树*, 2012, 41(1): 1 - 6.
- [25] Kasap I, Atlihan R. Consumption rate and functional response of the predaceous mite *Kampimodromus aberrans* to two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* in the laboratory [J]. *Experimental and Applied Acarology*, 2011, 53(3): 253 - 261.
- (责任编辑: 田 喆)