

沙棘绕实蝇成虫饲养研究

赵斌^{1,2}, 李莎莎¹, 苏智³, 曹丹丹¹, 魏建荣^{1*}

(1. 河北大学生命科学学院, 保定 071002; 2. 贵州省遵义市林业科学研究所, 遵义 563002;
3. 中国林业科学研究院沙漠林业实验中心, 巴彦淖尔 015200)

摘要 沙棘 *Hippophae rhamnoides* 是干旱半干旱地区重要的水土保持和经济树种, 沙棘绕实蝇 *Rhagoletis batava obseuriosa* 是沙棘果实的主要害虫。为了解成虫生活习性和为试验提供试虫, 对沙棘绕实蝇成虫的饲养方法进行了研究。以蔗糖和酵母为主配制不同配比的饲料进行饲喂, 观察成虫寿命和怀卵量的差异。结果显示, 以蔗糖: 酵母浸粉=3:1的配比饲养成虫, 成虫的寿命最长, 雌虫平均寿命为(13.19±0.72)d, 雄虫平均寿命为(14.87±0.83)d; 怀卵量也最大, 8日龄雌虫的平均怀卵量为(57.12±6.51)粒。对该配比饲料饲养的成虫开展了生命期望表和不同日龄怀卵量的研究, 表明沙棘绕实蝇成虫可以在推荐配比的人工饲料饲喂条件下获得较长的寿命和较高的生殖力。

关键词 沙棘; 沙棘绕实蝇; 人工饲料; 生命表

中图分类号: S 436.639 文献标识码: A DOI: 10.16688/j.zwbh.2017334

Rearing of *Rhagoletis batava obseuriosa* adults

ZHAO Bin^{1,2}, LI Shasha¹, SU Zhi³, CAO Dandan¹, WEI Jianrong¹

(1. College of Life Sciences, Hebei University, Baoding 071002, China; 2. Zunyi Institute of Forest Research, Zunyi 563002, China; 3. Desert Forestry Experimental Center, Chinese Academy of Forestry, Bayannur 015200, China)

Abstract The sea buckthorn *Hippophae rhamnoides* Linn. is a water- and soil-conservation tree species and also an economic tree species for its high value in Chinese medicine and health care. *Rhagoletis batava obseuriosa* Kol. (Diptera: Tephritidae) (RBO) is a serious fruit borer of *H. rhamnoides*. In order to study the adult biology, and supply testing individuals for the researchers, rearing method of RBO adults was studied in the laboratory. Different ratios of yeast extract powder and sucrose in diets were tested to compare the longevity and fecundity of adults. Life table of RBO was also used to evaluate the artificial diet. The results showed that when the ratio of sucrose: yeast extract powder in diet was 3:1, both the longevity and fecundity of adults were higher than those when other diets were used. Feeding with the diet (sucrose: yeast extract powder=3:1), the longevity of female was 13.19±0.72 (mean±SE) days, and the male was 14.87±0.83 days, respectively. There were 57.12±6.51 eggs in the ovaries of 8-day-old female. Rearing by recommended artificial diet, both the longevity and fecundity of RBO adults could be higher.

Key words sea buckthorn; *Rhagoletis batava obseuriosa*; artificial diet; life table

沙棘 *Hippophae rhamnoides* Linn. 是重要的水土保持树种, 在我国“三北”地区和西南地区有大量野生分布^[1]。近年来, 随着沙棘果实被很多医药与保健食品作为重要的原材料, 其人工种植面积也逐年扩大, 特别是具有俄罗斯和蒙古种源背景的大果沙棘^[2]。伴随大果沙棘的大面积种植, 钻蛀为害

沙棘果实的沙棘绕实蝇 *Rhagoletis batava obseuriosa* Kol. (Diptera: Tephritidae) (RBO) 在局部地区暴发成灾, 使当地种植园蒙受了较大经济损失^[3], 而且由于其适生程度较高, 对我国沙棘果实的潜在威胁比较大^[4]。

实蝇科昆虫是世界上具有重大经济意义的昆虫

收稿日期: 2017-08-30 修订日期: 2018-02-01

基金项目: 国家自然科学基金(31370647); 新疆维吾尔自治区林业厅项目(新林计字 2015-610); 中国林业科学研究院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(CAFYBB2017MB025)

* 通信作者 E-mail: weijr@hbu.edu.cn

类群之一,常以幼虫在瓜果蔬菜中取食,直接导致其腐烂毁坏而完全丧失经济价值,如地中海实蝇、橘小实蝇、瓜实蝇、苹果绕实蝇等^[5]。沙棘绕实蝇 1 年 1 代,成虫主要出现在 6 月中下旬至 7 月上中旬,有关其生物学特性研究国内已有一些报道^[6-7]。研究沙棘绕实蝇成虫的人工饲养技术是实现其有效、可持续控制的重要环节。自 20 世纪 50 年代至今,国内外关于各种实蝇人工饲料的研究有较多报道。加拿大农业部的 Neilson 曾于 1965 年报道苹果绕实蝇的成虫饲料,主要成分包括糖、氨基酸混合物、维生素、矿物质和水,采用该饲料成功培养出三代实蝇^[8]。为了降低成本和进一步优化饲料,大量饲养橘小实蝇等成虫的人工饲料主要营养成分采用了酵母和蔗糖^[9-12]。对其他实蝇的饲养也有较多研究,如发现饲喂泽兰实蝇不同浓度的蜂蜜水能够延长未交配两性成虫的寿命,其中以饲喂 10% 的蜂蜜水效果最好^[13];蛋白质在延长南美按实蝇成虫寿命和增强其繁殖力中具有重要作用^[14]。综上,蛋白质和糖类是实蝇生长发育过程中的两类必需营养源。沙棘绕实蝇主要生活在较为寒冷的干旱半干旱地区,其成虫是否具有与其他实蝇类昆虫相似的营养需求?作者在前人研究的基础上,就蛋白质和糖不同配比饲喂沙棘绕实蝇成虫的效果进行了研究,旨在找到饲喂沙棘绕实蝇成虫的最佳人工饲料,明确在人工饲养条件下的成虫寿命、繁殖力等参数,为进一步研究其生物学特性和防治技术打下基础。

1 材料与方 法

1.1 供试昆虫

于 2016 年 5 月在内蒙古巴彦淖尔市磴口县中国林业科学研究院沙漠林业实验中心(第三实验场,40°25.9'N,106°43.4'E)人工沙棘林内表层土中采集越冬的沙棘绕实蝇蛹,带回室内于自然温、湿度条件(白天 6:00—20:00,(23.2±2.9)℃;夜间 20:00—6:00,(15.2±2.7)℃;湿度:RH<50%)下饲养至其羽化。取同日羽化的健康实蝇雌、雄成虫作为本试验用虫。

1.2 供试材料

饲料成分:蔗糖(天津市科密欧化学试剂有限公司生产)、酵母浸粉(北京双旋微生物培养基制品厂生产)、洋槐蜂蜜(上海冠生园蜂制品有限公司生产)、纯净水。参考前人的工作,作者这里用酵母浸

粉作为饲料中的蛋白成分^[9-12]。其中,酵母浸粉含有约 35% 的优质蛋白质,富含 18 种氨基酸,6%~8% 的核酸,硫胺素、核黄素、烟酰胺、泛酸、吡哆醇等水溶性维生素。其中总氮≥10.0%、氨基氮≥5.0%、水分≤6%、氯化物≤2%、pH(2%水溶液):5.3~7.2。共配制了 6 种人工饲料,具体配方见表 1。饲料配制前蔗糖需用粉碎机研磨成粒径小于 100 μm 的粉末,各种组分间充分混匀。

表 1 沙棘绕实蝇人工饲料不同配方¹⁾

Table 1 Diet ingredients for *Rhagoletis batava obscuriosa* adult

配方 Formula	蔗糖/g Sucrose	酵母浸粉/g Yeast extract powder	蜂蜜/g Honey	水/g Water
A	133.3	66.7	—	—
B	150.0	50.0	—	—
C	160.0	40.0	—	—
D	166.7	33.3	—	—
E	171.4	28.6	—	—
F	—	—	20.0	180.0

1) “—”表示未添加该成分。

“—” indicates without that ingredient.

养虫盒:试验中所用养虫盒为 PP 材质的圆柱形保鲜盒(直径 18 cm,高 9 cm),盒盖凿两个直径 1 cm 的透气孔,并覆以 80 目纱网(防止实蝇逃逸)。

饲喂容器:供水容器和盛饲料容器均为直径 6 cm 的塑料培养皿,培养皿内铺入 1~2 层滤纸,固体人工饲料可直接撒在滤纸上,液体饲料先滴加于纱布包裹的脱脂棉球,再放入培养皿中,每次加饲料 1 g。供水培养皿内需在滤纸上覆 3~4 层润湿的棉纱布,既保证实蝇饮水又防止其溺亡。

1.3 不同饲料对成虫寿命的影响

每饲养盒内放入同一性别成虫 30 头(同日龄),饲料和水每隔 2 d 更换一次。饲养盒每周定期更换消毒。在室温条件下饲养观察,每日 19:00 检查实蝇存活情况。分雌雄性别,每组饲料设 3 个重复。

1.4 不同饲料饲喂的雌虫怀卵量测定

分别用 6 种饲料各单独饲养雌虫 15 头,饲养条件同上。至 8 日龄于显微镜下解剖检查怀卵量。

1.5 数据分析

首先检验数据是否符合正态分布,将不符合条件的原始数据经平方根转换后作为分析变量。不同饲料饲养实蝇成虫寿命及雌虫怀卵量数据均采用 SPSS 21 软件中的 One-way ANOVA-Tukey 方法

比较各变量间的差异显著性。

在优选的饲料(B 饲料)饲喂条件下,对沙棘绕实蝇各日龄的存活情况进行了统计并制作完成生命期望表,计算公式如下:

$$l_x = n_x/n_0; d_x = n_x - n_{x+1}; q_x = d_x/n_x;$$

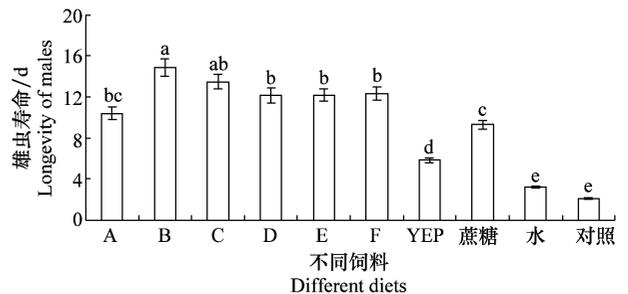
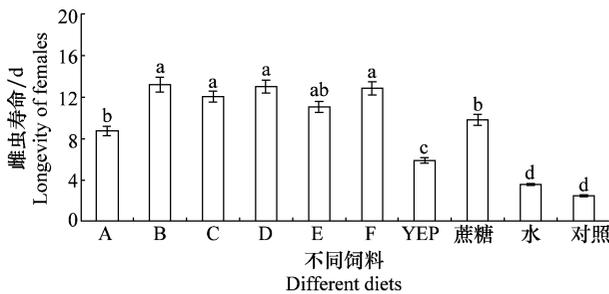
$$L_x = (n_x + n_{x+1})/2; T_x = \sum L_x; e_x = T_x/n_x$$

其中, x 为日龄分段; n_x 为日龄 x 期开始时的沙棘绕实蝇成虫存活数; l_x 为沙棘绕实蝇试验种群在 x 期开始时的个体存活率; d_x 为沙棘绕实蝇试验种群从 x 期到 $x+1$ 期死亡的虫数; q_x 为从 x 期到 $x+1$ 期沙棘绕实蝇的死亡率; L_x 为从 x 期到 $x+1$ 期实蝇的平均存活数; T_x 为进入 x 龄期的全部实蝇个体在进入 x 期以后的存活个体的总日龄数; e_x 为日龄 x 期开始时的生命期望, e_0 则为试验种群的平均寿命^[15]。

2 结果与分析

2.1 沙棘绕实蝇成虫寿命

如图 1 所示,不补充食物的沙棘绕实蝇雌雄成



图中数据为平均值±标准误;柱图上方不同的字母表示不同饲料饲养实蝇寿命差异显著($P < 0.05$); A. 蔗糖:酵母浸粉=2:1; B. 蔗糖:酵母浸粉=3:1; C. 蔗糖:酵母浸粉=4:1; D. 蔗糖:酵母浸粉=5:1; E. 蔗糖:酵母浸粉=6:1; F. 10%蜂蜜水; YEP. 酵母浸粉。下同
Data are mean±SE. The different letters indicate significant difference at $P < 0.05$. A. Sucrose: yeast extract power=2:1; B. Sucrose: yeast extract power=3:1; C. Sucrose: yeast extract power=4:1; D. Sucrose: yeast extract power=5:1; E. Sucrose: yeast extract power=6:1; F. 10% honey water; YEP. Yeast extract powder. The same below

图 1 不同饲料饲养沙棘绕实蝇雌、雄成虫的寿命

Fig. 1 The longevity of female and male adults of *Rhagoletis batava obscuriosa* fed with different diets

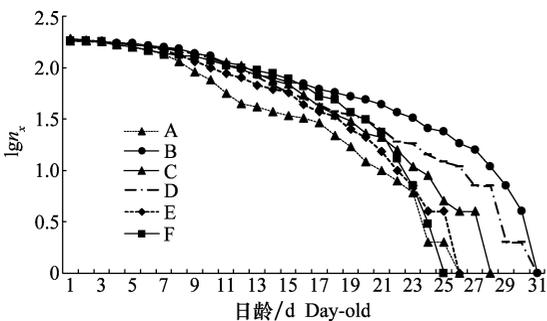


图 2 不同饲料饲喂沙棘绕实蝇成虫存活曲线

Fig. 2 The adult survival curve of *Rhagoletis batava obscuriosa* fed with different diets

虫寿命极短,仅存活 2~4 d,饲喂人工配制的 6 种饲料均可显著延长沙棘绕实蝇寿命($F=129.911; df=7; P < 0.05$)。6 种人工饲料饲养的沙棘绕实蝇成虫平均寿命从大到小依次为: $B > C > F > D > E > A$, B 配方饲养的实蝇平均寿命最长,为 (14.04 ± 7.50) d, A 配方饲养的实蝇平均寿命最短,为 (9.54 ± 5.38) d。人工饲料 B(蔗糖:酵母浸粉=3:1)、C(蔗糖:酵母浸粉=4:1)、D(蔗糖:酵母浸粉=5:1)和 F(10%蜂蜜水)饲养的雌成虫寿命显著长于饲料 A(蔗糖:酵母=2:1)和只饲喂蔗糖或酵母的雌成虫寿命($F=63.107; df=9; P < 0.05$),饲料 B、C、D、E(蔗糖:酵母=6:1)饲喂的雄成虫寿命显著长于只饲喂蔗糖或酵母的实蝇雄虫($F=63.389; df=9; P < 0.05$)。所有 6 种饲料饲喂沙棘绕实蝇雌、雄成虫寿命无显著差异。

不同饲料饲喂沙棘绕实蝇成虫的存活曲线见图 2,6 种人工饲料饲喂种群的存活曲线均为较典型的凸型曲线。曲线 A、C、E 和 F 在 10 日龄前相对平缓,实蝇死亡率较低,10~20 日龄期间曲线开始缓慢下降,20 日龄后迅速下降,成虫死亡率迅速升高;而曲线 B 和 D 迅速下降的趋势出现在 26 日龄后。

2.2 优选饲料饲养下的成虫生命期望

人工饲料 B 饲喂的沙棘绕实蝇成虫生命见表 2。当成虫到达 12 日龄时,其死亡率已达到 50% 以上,但成虫最长可活 32 d,说明大部分成虫寿命仍有延长的潜力。

2.3 不同饲料饲养的沙棘绕实蝇雌虫怀卵量

如图 3 所示,通过解剖 8 日龄雌成虫统计怀卵量,发现人工饲料 A、B、C、D、E、F 饲养的雌成虫怀卵量无显著性差异($F=0.701; df=5; P > 0.05$),饲料 A、B、C 和 F 饲喂成虫怀卵量稍多。酵母饲喂的

实蝇因为寿命短,统计数据来源于 6~7 日龄雌成虫,其怀卵量也最少($F=2.547; df=7; P<0.05$)。

其中饲料 B 饲养的成虫平均寿命最长,8 日龄的怀卵量为(57.12±6.51)粒。

表 2 人工饲料 B 饲喂的沙棘绕实蝇成虫生命表¹⁾

Table 2 The adult life table of *Rhagoletis batava obscuriosa* fed with diet B

日龄(x)/d Age	存活数(xn_x)/头 No. of survival at the start of age interval	存活率(L_x) Rate of survival	死亡数(d_x)/头 No. of dying within age interval x to $x+1$	死亡率(q_x) Rate of mortality	L_x	T_x	生命期望(e_x) Mean expected lifespan for RBO at the start of age x
0	184	1.000	0	0.000	184.0	2 491.0	13.54
1	184	1.000	5	0.027	181.5	2 307.0	12.54
2	179	0.973	4	0.022	177.0	2 125.5	11.87
3	175	0.951	2	0.011	174.0	1 948.5	11.13
4	173	0.940	9	0.052	168.5	1 774.5	10.26
5	164	0.891	7	0.043	160.5	1 606.0	9.79
6	157	0.853	7	0.045	153.5	1 445.5	9.21
7	150	0.815	13	0.087	143.5	1 292.0	8.61
8	137	0.745	7	0.051	133.5	1 148.5	8.38
9	130	0.707	25	0.192	117.5	1 015.0	7.81
10	105	0.571	9	0.086	100.5	897.5	8.55
11	96	0.522	10	0.104	91.0	797.0	8.30
12	86	0.467	7	0.081	82.5	706.0	8.21
13	79	0.429	6	0.076	76.0	623.5	7.89
14	73	0.397	4	0.055	71.0	547.5	7.50
15	69	0.375	7	0.101	65.5	476.5	6.91
16	62	0.337	4	0.065	60.0	411.0	6.63
17	58	0.315	6	0.103	55.0	351.0	6.05
18	52	0.283	3	0.058	50.5	296.0	5.69
19	49	0.266	5	0.102	46.5	245.5	5.01
20	44	0.239	8	0.182	40.0	199.0	4.52
21	36	0.196	4	0.111	34.0	159.0	4.42
22	32	0.174	6	0.188	29.0	125.0	3.91
23	26	0.141	2	0.077	25.0	96.0	3.69
24	24	0.130	6	0.250	21.0	71.0	2.96
25	18	0.098	2	0.111	17.0	50.0	2.78
26	16	0.087	5	0.313	13.5	33.0	2.06
27	11	0.060	4	0.364	9.0	19.5	1.77
28	7	0.038	3	0.429	5.5	10.5	1.50
29	4	0.022	3	0.750	2.5	5.0	1.25
30	1	0.005	0	0.000	1.0	2.5	2.50
31	1	0.005	0	0.000	1.0	1.5	1.50
32	1	0.005	1	1.000	0.5	0.5	0.50
33	0	0	—	—	0	0	—

1) $l_x = n_x/n_0; d_x = n_x - n_{x+1}; q_x = d_x/n_x; L_x = (n_x + n_{x+1})/2; T_x = \sum L_x; e_x = T_x/n_x$ 。

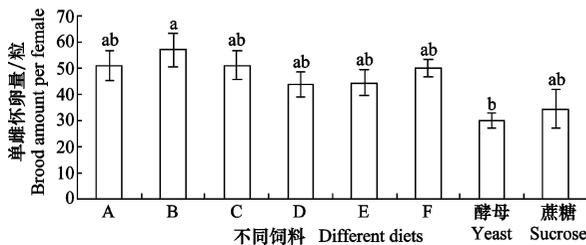
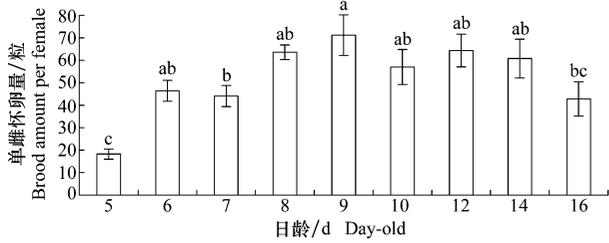


图 3 不同饲料饲养的沙棘绕实蝇雌成虫怀卵量
Fig. 3 The brood amounts of *Rhagoletis batava obscuriosa* female fed with different diets

2.4 优选饲料饲养的沙棘绕实蝇雌虫怀卵量日变化

在 B 饲料饲喂条件下,通过解剖观察不同日龄雌成虫的怀卵量(图 4),发现 9 日龄雌虫的怀卵量最高,为(71.2±9.05)粒,5 日龄的怀卵量最低,差异显著($F=9.29; df=8; P<0.001$)。但 8 日龄到 14 日龄雌虫的怀卵量无显著差异($F=0.574; df=4; P>0.05$)。



图中数值为平均值±标准误; 不同的小写字母表示不同日龄雌成虫卵量差异显著($P < 0.05$)
Data are mean±SE. The different lowercase letters indicate significant difference between different day-old females. (Tukey's test of One-way ANOVA, $P < 0.05$)

图4 不同日龄沙棘绕实蝇雌虫卵量

Fig. 4 Egg numbers in the ovaries of different day-old

Rhagoletis batava obscuriosa females

3 结论与讨论

无论开展实蝇的生物学、行为学、生理学及毒理学研究,还是利用不育技术防治实蝇都需要大量生理状态整齐划一的虫源,因此开展实蝇人工饲料和饲养技术的研究无论在理论上还是在生产上均具有重要意义。蛋白质和糖是实蝇维持生命活动所必需的两种营养成分,糖可直接提供能量,而蛋白质可促进实蝇性成熟^[10,13,16]。本研究发现,只提供酵母浸粉,沙棘绕实蝇成虫仅能存活6 d左右,而只饲喂蔗糖的成虫性成熟迟缓,雌虫怀卵量较低。人工饲料B(蔗糖:酵母浸粉=3:1)饲喂的沙棘绕实蝇成虫无论是在平均寿命,或是雌虫怀卵量均较其他饲料稍好。这与前人研究不同营养条件对橘小实蝇的生殖力和生命表的影响,发现蛋白质:糖=1:3时饲养效果最好相一致^[11];胡陇生等人对枣实蝇成虫人工饲养的研究也证实酵母浸粉、蔗糖和纯净水按照1:3:1的比例混配的饲料饲喂效果最为优异^[17]。不同种类的实蝇对营养需求也存在着差异,林明光等人报道1:2重量比混合的蔗糖和啤酒酵母是饲养橘小实蝇和瓜实蝇成虫的最佳饲料^[18];南亚实蝇成虫以蛋白质:糖:水=1:3:1的饲料饲喂时,饲养效果却不如天然瓜果食料^[19]。

与文献中报道的其他实蝇相比,沙棘绕实蝇成虫寿命较短,产卵前期也短,可能与其分布于干旱、寒冷地区有关。另外,到目前为止还未发现沙棘绕实蝇为害其他植物,从物候角度来看,成虫的野外活动期需与其寄主果实期保持一致,因此沙棘绕实蝇成虫寿命的长短可能与沙棘果实的发育期长短有关,而大果沙棘果实的发育与成熟期和野生的中国沙棘 *Hippophae rhamnoides* L. subsp. *sinensis* Rousi. 相

比相对较短,其适生地应在北纬40°以北^[2]。还需提及的是,作者开展试验所用的饲养盒尺寸较小,有可能造成成虫活动空间不足进而影响其寿命。

初期饲养中发现,当饲养盒透气孔过小时,会造成盒内湿度大,人工饲料极易吸水潮解,沙棘绕实蝇取食时易被粘着而无法脱身。如果不及时更换饲料或消毒饲养盒,沙棘绕实蝇死亡较快。另外,饲养过程中发现成虫在缺水情况下寿命极短,只能维持2~3 d。通过生命表技术研究发现,人工饲养的沙棘绕实蝇成虫在第2周时,死亡数量较多,因此在该时期应加强对饲养成虫的管理,注意保湿并及时清理死亡实蝇。

蛋白饵剂是防治实蝇的一种主要诱杀剂^[20-22],其原理也是基于其成虫对蛋白的需求而起到诱杀效果。从本研究结果可以推断,蛋白类诱杀性饵剂对沙棘绕实蝇同样会有一定的防治作用。

参考文献

- [1] 陈学林, 廉永善. 沙棘属植物的分布格局及其成因[J]. 西北植物学报, 1994, 14(6): 15-21.
- [2] 张建国, 段爱国, 黄铨, 等. 大果沙棘品种适应性及其综合评价[J]. 林业科学研究, 2007, 20(1): 10-14.
- [3] 魏建荣, 苏智, 刘明虎, 等. 沙棘果实的重要检疫害虫—沙棘绕实蝇的发生与危害[J]. 内蒙古林业科技, 2012, 38(4): 55-57.
- [4] 何佳遥, 赵继羽, 赵紫华, 等. 基于最大熵模型的沙棘绕实蝇适生性研究[J]. 植物检疫, 2017, 31(2): 22-29.
- [5] 梁广勤. 实蝇[M]. 北京: 中国农业出版社, 2011.
- [6] 葛葆蔚. 沙棘果实蝇防治技术的研究[J]. 森林病虫害通讯, 1991(2): 24-25.
- [7] 赵斌, 苏智, 李莎莎, 等. 沙棘绕实蝇的生物学习性[J]. 林业科学研究, 2017, 30(4): 576-581.
- [8] NEILSON W T A. Culturing of the apple maggot, *Rhagoletis pomonella* [J]. Journal of Economic Entomology, 1965, 58(6): 1056-1057.
- [9] 梁广勤, 徐伟. 不同成虫饲料对桔小实蝇卵量及孵化率的影响[J]. 植物检疫, 1989(6): 404-405.
- [10] 袁盛勇, 孔琼, 肖春, 等. 桔小实蝇成虫人工饲料的筛选[J]. 华中农业大学学报, 2006, 25(4): 371-374.
- [11] 王波, 季清娥, 陈家骅, 等. 不同营养条件对橘小实蝇实验种群生殖力及生命表的影响[J]. 热带作物学报, 2012, 33(3): 551-555.
- [12] 林明光, 汪兴鉴, 张艳, 等. 橘小实蝇、瓜实蝇和南亚果实蝇人工饲料的优化[J]. 应用昆虫学报, 2013, 50(4): 1115-1125.
- [13] 马沙, 吴国星, 朱家颖, 等. 补充蜂蜜水及交配行为对泽兰实蝇成虫寿命的影响[J]. 江西农业学报, 2012, 24(2): 83-85.
- [14] OVIEDO A, NESTEL D, PAPAPOPOULOS N T, et al. Management of protein intake in the fruit fly *Anastrepha fraterculus* [J]. Journal of Insect Physiology, 2011, 57(12): 1622-1630.

有损操作者健康。目前国内外已开发了多种 DNA 提取纯化试剂盒,这些试剂盒操作简单、高效, DNA 质量较高,但价格昂贵,提取量少。在本试验中,笔者用 NaOH 裂解法提取植物组织 DNA,该方法更加方便快捷,整个提取过程不超过 10 min,且只需小型台式离心机或普通离心机等简单仪器,样品仅用塑料研磨棒或玻璃棒等简易器具在缓冲液中捣碎即可。

本研究成功建立了豇豆疫霉 LAMP 检测体系,弥补了传统组织分离法和 PCR 方法鉴定病原的多方面不足;它具有操作方便、经济廉价等优势,整个过程只需一个恒温水浴锅即可,且结果可通过反应管指示剂的颜色变化直接肉眼判断,不需要专门的检测仪器,同时可结合 NaOH 快速提取 DNA 技术,使豇豆疫病检测的实地应用成为可能。该技术为豇豆疫病早期检测提供了支撑,同时为农业生产上其他病害的快速诊断提供了重要参考。

参考文献

[1] 黄健坤,戚佩坤.长豇豆疫病的初步研究[J].植物病理学报,1984,14(4):193-199.

[2] 成家壮,韦小燕.眉豆疫病的病原鉴定及药剂防治[J].植物保护学报,1999,26(2):129-132.

[3] NOTOMI T, OKAYAMA H, MASUBUCHI H, et al. Loop-mediated isothermal amplification of DNA[J]. Nucleic Acids Research, 2000, 28(12): e63.

[4] FUKUTA S, KATO S, YOSHIDA K, et al. Detection of tomato yellow leaf curl virus by loop-mediated isothermal amplification reaction[J]. Journal of Virological Methods, 2003(112):35-40.

[5] IWAMOTO T, SONOBE T, HAYASHI K. Loop-mediated isothermal amplification for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex, *M. avium*, and *M. intracellulare* in sputum

samples[J]. Journal of Clinical Microbiology, 2003, 41(6): 2616-2622.

[6] KUBOKI N, INOUE N, SAKURAI T, et al. Loop-mediated isothermal amplification for detection of *African trypanosomes* [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2003, 41(12):5517-5524.

[7] ENDO S, KOMORI T, RICCI G, et al. Detection of *gpb43* of *Paracoccidioides brasiliensis* by the loop-mediated isothermal amplification(LAMP) method[J]. FEMS Microbiology Letters, 2004, 234(1):93-97.

[8] 高乔芬,秦西云,方敦煌,等.烟草疫霉的快速分子检测[J].云南农业大学学报,2012,27(2):156-159.

[9] 郭成宝,张正光,王源超,等.非洲菊疫霉根腐病的快速分子诊断[J].植物病理学报,2006,36(2):97-101.

[10] 杜洪忠,吴品珊,严进,等.冬生疫霉的实时荧光 PCR 检测方法[J].植物检疫,2013(1):36-39.

[11] HANSEN Z R, KNAUS B J, TABIMA J F, et al. Loop-mediated isothermal amplification for detection of the tomato and potato late blight pathogen, *Phytophthora infestans*[J]. Journal of Applied Microbiology, 2016, 120(4): 1010-1020.

[12] 陈庆河,李本金,兰成忠,等.双重 PCR 检测马铃薯晚疫病菌和青枯病菌方法的建立及应用[J].植物病理学报,2009,39(6): 578-583.

[13] HE Y Q. An improved protocol for fungal DNA preparation [J]. Mycosystema, 2000, 19(3): 434.

[14] 陈丽璇.钙黄绿素(Calcein)於环形核酸增幅法(LAMP)之应用评估[J].家畜卫试所研报,2011(46):1-8.

[15] 贾蒙鹭,陈兴江,林叶春,等.基于环式等温扩增的烟草青枯病原菌快速检测方法[J].中国农业大学学报,2014,19(1):93-98.

[16] HUANG J L, WU J Z, LI C J, et al. Detection of *Phytophthora nicotianae* in soil with real-time quantitative PCR [J]. Journal of Phytopathology, 2010, 158(1):15-21.

[17] 秦文韬.葡萄霜霉病菌快速分子检测方法研究[D].北京:中国农业科学院植物保护研究所,2013.

[18] 童显安,周建辉,李永学.豇豆疫病与细菌性疫病的识别与防治[J].上海蔬菜,2012(3):74-75.

(责任编辑:杨明丽)

(上接 118 页)

[15] 牛翠娟.基础生态学[M].第3版.北京:高等教育出版社,2015.

[16] PEA T, GAVILANEZSLONE J M, DUEBEN B D. Effects of sucrose in adult diet on mortality of males of *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae) [J]. Florida Entomologist, 2014, 87(4): 487-491.

[17] 胡隄生,朱银飞,田呈明,等.枣实蝇成虫饲养初报[J].中国森林病虫,2012,31(4):31-32.

[18] 林明光,汪兴鉴,张艳,等.橘小实蝇、瓜实蝇和南亚果实蝇人工饲料的优化[J].应用昆虫学报,2013,50(4):1115-1125.

[19] 周波,刘映红,刘丽红.不同食料对南亚实蝇生长发育及繁殖的影响[J].西南大学学报自然科学版,2005,27(3):301-304.

[20] EPSKY N D, HEATH R B, HOLLER T C, et al. Corn steepwater as protein bait for *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae) [J]. Environmental Entomology, 1994, 23(4):827-831.

[21] HEATH R R, EPSKY N D, BLOEM S, et al. pH effect on the attractiveness of a corn hydrolysate to the Mediterranean fruit fly and several *Anastrepha* species (Diptera: Tephritidae)[J]. Journal of Economic Entomology, 1994, 87(4): 1008-1013.

[22] 杜迎刚,陈家骅,季清.一种新型蛋白诱剂对橘小实蝇引诱作用[J].福建林学院学报,2007,27(3):259-262.

(责任编辑:田喆)