烟粉虱中甘薯双生病毒(sweepoviruses)半巢式PCR快速检测技术的建立与应用

秦艳红， 王 爽， 田雨婷， 乔 奇， 张德胜， 王永江， 张振臣*

（河南省农业科学院植物保护研究所，河南省农作物病虫害防治重点实验室，农业农村部华北南部作物有害生物综合治理重点实验室，郑州 450002）

摘要 甘薯双生病毒(sweepoviruses)是侵染甘薯的一类重要病毒，通过烟粉虱以持久方式传播，我国甘薯上至少存在8种甘薯双生病毒。本研究根据我国已报道的8种甘薯双生病毒基因组保守区设计了一组引物，建立了单头烟粉虱中甘薯双生病毒的半巢式PCR快速检测方法。特异性和灵敏性分析结果表明，半巢式PCR具有较高的特异性和灵敏性，以8种不同甘薯双生病毒重组质粒为模板时，该方法能同时检测出8种甘薯双生病毒，且半巢式PCR方法的灵敏性比常规PCR高10～10 000倍。对烟粉虱的检测结果表明，该方法能稳定地从单头烟粉虱中检测出甘薯双生病毒。该方法具有经济、快速，灵敏性、特异性和稳定性均较好等优点。

关键词 甘薯双生病毒； 半巢式PCR； 检测

中图分类号： S435.31 **文献标识码：** A **DOI：** 10.16688/j.zwbh.2020524

Development of semi-nested PCR method for rapid detection of sweepoviruses in *Bemisia tabaci*

QIN Yanhong， WANG Shuang， TIAN Yuting， QIAO Qi， ZHANG Desheng， WANG Yongjiang， ZHANG Zhenchen*

（*Institute of Plant Protection*，*Henan Academy of Agricultural Sciences*，*Henan Key Laboratory of Crop Pest Control*，*IPM Key Laboratory in Southern Part of North China for Ministry of Agricultural and Rural Affairs*，*Zhengzhou* 450002，*China*）

Abstract Sweepoviruses are the viruses infecting sweet potato and transmitted by *Bemisia tabaci* in persistent manner. At least eight viruses had been identified in Chinese sweet potato. Primers were designed based on the conserved regions of genome of eight sweepoviruses from China. The rapid semi-nested PCR detection technology was established for the detection of sweepoviruses in single whitefly. The semi-nested PCR had high specificity and sensitivity. With the recombination plasmids of eight sweepoviruses as template, eight viruses could be simultaneously detected. The sensitivity of the semi-nested PCR was higher than that of conventional PCR by 10－10 000 times. Sweepoviruses could be steadily detected from individual whitefly by using the semi-nested PCR assay. This assay is of economical, rapid, sensitive, specific and stable for rapid detection of sweepoviruses in *B. tabaci*.

Key words sweepoviruses； semi-nested PCR； detection

甘薯双生病毒是侵染甘薯的一类重要病毒，近年来在我国甘薯上的危害日趋严重。感染该类病毒的甘薯主要表现出叶片上卷、叶脉变黄，叶片变厚等症状，一般造成的产量损失为26%～63%[1]，在有些品种上甚至造成86%的产量损失[2-3]。根据国际病毒分类委员会最新的第十次分类报告，甘薯双生病毒包括13个种，我国已报道的有8个种，分别为甘薯曲叶病毒 *Sweet potato leaf curl virus*（SPLCV）、甘薯中国曲叶病毒 *Sweet potato leaf curl China virus*（SPLCCNV）、甘薯加那利曲叶病毒

收稿日期： 2020－10－09 **修订日期：** 2020－12－25
基金项目： 国家甘薯产业技术体系(CARS-10-B13)
* 通信作者 E-mail：zhangzhenchen@126.com

Sweet potato leaf curl Canary virus(SPLCCV)、甘薯乔治亚曲叶病毒 *Sweet potato leaf curl Georgia virus*(SPLCGoV)、甘薯河南曲叶病毒 *Sweet potato leaf curl Henan virus*(SPLCHnV)、甘薯山东曲叶病毒 *Sweet potato leaf curl Shandong virus*(SPLCSdV)、甘薯四川曲叶病毒 1 *Sweet potato leaf curl Sichuan virus 1*(SPLCSiV1)、甘薯四川曲叶病毒 2 *Sweet potato leaf curl Sichuan virus 2*(SPLCSiV2)[4-8]。系统发育分析表明,侵染甘薯的双生病毒各个分离物聚成一簇,与侵染其他植物的双生病毒处于不同的分支,因此甘薯双生病毒被称为 sweepoviruses[9]。

目前甘薯双生病毒的检测技术研究主要有:环介导恒温核酸扩增(loop mediated isothermal amplification,LAMP)快速检测甘薯曲叶病毒[10];PCR 和滚环扩增(rolling circle amplification,RCA)方法对我国 20 多个省市的甘薯双生病毒的检测[11];甘薯薯块中甘薯褪绿矮化病毒 *Sweet potato chlorotic stunt virus*(SPCSV)和甘薯双生病毒的多重 PCR 检测[12];甘薯双生病毒的实时荧光定量 PCR 检测[13]。关于烟粉虱 *Bemisia tabaci* 中病毒检测方法的研究有单头烟粉虱中 SPCSV 的半巢式 RT-PCR 检测方法[14],单头烟粉虱中番茄黄化曲叶病毒 *Tomato yellow leaf curl virus*(TYLCV)、瓜类褪绿黄化病毒 Cucurbit chlorotic yellows virus(CCYV)和木尔坦棉花曲叶病毒 *Cotton leaf curl Multan virus*(CLCuMuV)的 LAMP 检测方法[15-17]等。目前,对烟粉虱中甘薯双生病毒检测方法的研究还未见报道,因此,本研究拟建立一种快速、灵敏的检测方法,用于检测单头烟粉虱是否携带甘薯双生病毒,为检测田间烟粉虱的带毒率提供技术支撑。

1　材料与方法

1.1　供试材料

无毒烟粉虱为本实验室饲养,饲养在'中烟 100'烟草上。将携带甘薯双生病毒的甘薯植株置于养虫笼中,取无毒烟粉虱放入养虫笼中饲养,获得带毒烟粉虱。SPLCV、SPLCCNV、SPLCCV、SPLCGoV、SPLCHnV、SPLCSdV、SPLCSiV1、SPLCSiV2 和 SPCSV(对照)等重组质粒为本实验室保存。

1.2　主要试剂及试剂盒

DNA 胶回收试剂盒和柱式质粒小量抽提试剂盒购自生工生物工程(上海)股份有限公司;2×Premix *Taq* DNA 聚合酶、T4 DNA 连接酶、pMD19-T 载体和 DL2000 Marker 购自宝生物工程(大连)有限公司;大肠杆菌 TG1 感受态细胞为本实验室制备并保存于−70℃冰箱;其他常用生化试剂为进口或国产分析纯。

1.3　引物设计与合成

根据 GenBank 公布的甘薯双生病毒保守序列,设计 3 条引物 sweepoviruses-380F:5′-TATGGGGGGGAGACCGGTAAGACGGAG-3′,sweepoviruses-1280R:5′-GACTGGTATTTTGGAACGCCTTAAATGGC-3′,sweepoviruses-450F:5′-GTCCCAATTGCTGCCCGAAGCTATGTC-3′,引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。sweepoviruses-380F 和 sweepoviruses-1280R 为半巢式 PCR 第 1 轮扩增引物,sweepoviruses-450F 和 sweepoviruses-1280R 为半巢式 PCR 第 2 轮扩增引物。第 1 轮和第 2 轮 PCR 预期扩增片段长度分别为 915 bp 和 846 bp。

1.4　半巢式 PCR 的通用性和特异性检测

将 SPLCV、SPLCCNV、SPLCCV、SPLCGoV、SPLCHnV、SPLCSdV、SPLCSiV1、SPLCSiV2 等 8 种甘薯双生病毒和 SPCSV 重组质粒分别稀释 1 000 倍,以稀释的质粒为模板,进行第 1 轮 PCR 扩增,反应体系为:2×Premix *Taq* DNA 聚合酶10 μL,稀释的重组质粒 0.5 μL,sweepoviruses-380F(10 μmol/L)和 sweepoviruses-1280R(10 μmol/L)各 0.5 μL,ddH_2O 8.5 μL。扩增条件为:94 ℃预变性 5 min;94 ℃变性 30 s,58 ℃退火 30 s,72 ℃延伸 1 min,30 个循环;72 ℃延伸 10 min。

以第 1 轮 PCR 反应产物为模板,进行第 2 轮 PCR 扩增,反应体系为:2×Premix *Taq* DNA 聚合酶 10 μL,sweepoviruses-450F(10 μmol/L)和 sweepoviruses-1280R(10 μmol/L)各 0.5 μL,第 1 轮反应产物 0.5 μL,ddH_2O 8.5 μL。反应条件为:94 ℃预变性 5 min;94 ℃变性 30 s,58 ℃退火 30 s,72 ℃延伸 50 s,30 个循环;72 ℃延伸 10 min。确定该方法对 8 种甘薯双生病毒检测的通用性和特异性。

1.5　半巢式 PCR 方法的灵敏度检测

利用超微量核酸蛋白测定仪测定 8 种甘薯双生病毒重组质粒的浓度,根据阿伏伽德罗常数将

浓度换算为拷贝数[18]，将质粒用超纯水梯度稀释成 10^{-1}～10^{-10}，分别以稀释后的质粒为模板，按照 1.4 中的体系和反应条件进行 PCR 和半巢式 PCR 灵敏性的检测，比较两种方法之间的灵敏性差异。

1.6 单头烟粉虱中甘薯双生病毒的检测

以带毒烟粉虱为材料，无毒烟粉虱为阴性对照，利用牙签将单头烟粉虱在 PCR 管中捣碎，加入 10 μL ddH_2O，12 000 r/min 离心 1 min，取上清作为模板，分别利用常规 PCR 和上述建立的半巢式 PCR 方法对单头烟粉虱进行检测。

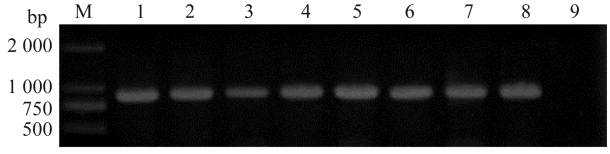
1.7 田间样品检测

从田间表现卷叶症状的甘薯植株上采集烟粉虱，利用建立的半巢式 PCR 对单头烟粉虱进行检测，随机挑选阳性目的条带，割胶纯化并克隆至 pMD19-T 载体上，重组质粒由 TaKaRa 公司完成序列测定，对测序结果进行 BLAST 比对分析。

2 结果与分析

2.1 半巢式 PCR 的通用性和特异性检测

分别以 8 种甘薯双生病毒和 SPCSV 重组质粒的 1 000 倍稀释液为模板，在相同条件下进行半巢式 PCR 反应，对半巢式 PCR 的通用性和特异性进行检测。结果表明，以 8 种甘薯双生病毒重组质粒为模板的样品均能扩增出 846 bp 的目的条带，而以 SPCSV 重组质粒为模板的样品未扩增出相应目的条带(图 1)，表明建立的方法能同时对 8 种甘薯双生病毒进行检测，通用性和特异性均较好。



M: DL2000 DNA分子量标准; 1: 甘薯曲叶病毒; 2: 甘薯乔治亚曲叶病毒; 3: 甘薯四川曲叶病毒1; 4: 甘薯四川曲叶病毒2; 5: 甘薯中国曲叶病毒; 6: 甘薯山东曲叶病毒; 7: 甘薯河南曲叶病毒; 8: 甘薯加那利曲叶病毒; 9: 甘薯褪绿矮化病毒(对照)

M: DL2000 DNA marker; 1: *Sweet potato leaf curl virus*; 2: *Sweet potato leaf curl Georgia virus*; 3: *Sweet potato leaf curl Sichuan virus* 1; 4: *Sweet potato leaf curl Sichuan virus* 2; 5: *Sweet potato leaf curl China virus*; 6: *Sweet potato leaf curl Shandong virus*; 7: *Sweet potato leaf curl Henan virus*; 8: *Sweet potato leaf curl Canary virus*; 9: *Sweet potato chlorotic stunt virus* (control)

图 1 半巢式 PCR 的特异性检测结果

Fig. 1 Result of specificity test of semi-nested PCR

2.2 半巢式 PCR 的灵敏度检测

分别以 8 种甘薯双生病毒重组质粒的 10 倍梯度稀释液为模板，进行半巢式 PCR 检测，结果表明(表 1)，半巢式 PCR 对 SPLCV、SPLCCNV、SPLCCV、SPLCGoV、SPLCHnV、SPLCSdV、SPLCSiV1、SPLCSiV2 等 8 种病毒的最低检测浓度分别为 4.62、5.17、7.57、12.00、9.84、6.48、10.90、8.81 拷贝/μL，常规 PCR 对这 8 种病毒的最低检测浓度分别为 4.62×10^2、5.17×10^2、7.57×10^2、1.2×10^3、9.84×10、6.48×10^4、1.09×10^2、8.81×10^2 拷贝/μL，说明针对不同的甘薯双生病毒，建立的半巢式 PCR 检测灵敏度比常规 PCR 高 10～10^4 倍，灵敏度较高。

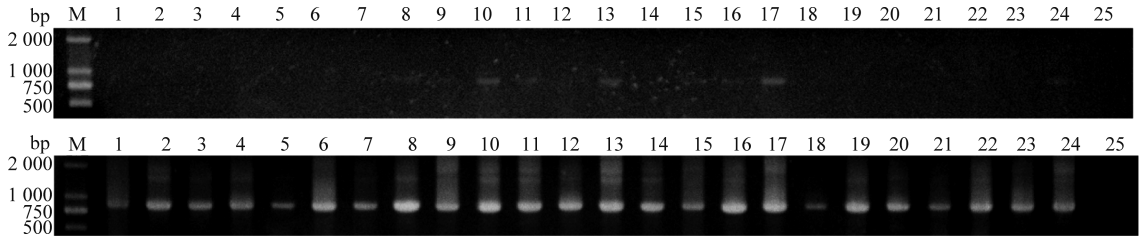
表 1 半巢式 PCR 与常规 PCR 的灵敏度对比

Table 1 Comparation of sensitivity of semi-nested and conventional PCR

病毒种类 Species	质粒浓度/ng·μL^{-1} Concentration of plasmid	半巢式 PCR 灵敏度/拷贝·μL^{-1} Sensitivity of semi-nested PCR	常规 PCR 灵敏度/拷贝·μL^{-1} Sensitivity of conventional PCR
甘薯曲叶病毒 *Sweet potato leaf curl virus*	654.00	4.62	4.62×10^2
甘薯中国曲叶病毒 *Sweet potato leaf curl China virus*	456.50	5.17	5.17×10^2
甘薯加那利曲叶病毒 *Sweet potato leaf curl Canary virus*	531.50	7.57	7.57×10^2
甘薯乔治亚曲叶病毒 *Sweet potato leaf curl Georgia virus*	723.50	12.00	1.20×10^3
甘薯河南曲叶病毒 *Sweet potato leaf curl Henan virus*	390.50	9.84	9.84×10
甘薯山东曲叶病毒 *Sweet potato leaf curl Shandong virus*	311.50	6.48	6.48×10^4
甘薯四川曲叶病毒 1 *Sweet potato leaf curl Sichuan virus* 1	593.50	10.90	1.09×10^2
甘薯四川曲叶病毒 2 *Sweet potato leaf curl Sichuan virus* 2	278.50	8.81	8.81×10^2

2.3 单头烟粉虱中甘薯双生病毒的检测

分别以带毒烟粉虱为材料，无毒烟粉虱为对照进行半巢式 PCR 扩增，对单头烟粉虱进行 24 次重复检测结果表明，半巢式 PCR 能稳定地从单头带毒烟粉虱中扩增出大小为 846 bp 的目的条带，常规 PCR 方法仅检测到 3 次阳性结果，无毒烟粉虱无相应条带，说明该方法稳定性较好(图 2)。



M: DL2000分子量标准; 1~24: 带甘薯双生病毒烟粉虱; 25: 阴性对照
M: DL2000 marker; 1-24: Whiteflies with sweepoviruses; 25: Negative control

图 2　常规 PCR(上)和半巢式 PCR(下)检测单头烟粉虱中的甘薯双生病毒

Fig. 2　Amplification of conventional PCR (up) and semi-nested PCR (down) for detection of sweepoviruses in *Bemisia tabaci*

2.4　田间样品检测

从田间显症甘薯上采集烟粉虱,利用半巢式 PCR 方法对单头烟粉虱中携带的甘薯双生病毒进行检测,对 40 头烟粉虱的检测结果表明,常规 PCR 方法从 5 头烟粉虱中检测出甘薯双生病毒,检出率仅为 12.5%,半巢式 PCR 从 37 头烟粉虱中检测到甘薯双生病毒,其中包括常规 PCR 检测为阳性的 5 个样品,检出率为 92.5%。随机挑选阳性样品的目的条带,克隆测序后进行 BLAST 比对分析,结果表明,所获得的序列与已报道的 SPLCSiV2 的 Henan74-2017 分离物(GenBank 登录号为 MK931317)序列一致性达 99.04%,说明该方法扩增出的目的片段为甘薯双生病毒的特异性片段,表明该方法可应用于田间样品的检测。

3　讨论

甘薯双生病毒是对侵染甘薯的菜豆金色花叶病毒属 *Begomovirus* 病毒的总称,为甘薯上发生频率较高的一大类病毒,2006 年首次在中国大陆出现[4],随后逐渐蔓延,目前在我国南方、北方和长江中下游等甘薯主产区均有发生[11, 19]。甘薯双生病毒的传毒介体为烟粉虱,以持久方式进行传播,由于烟粉虱个体小,繁殖能力强,扩散迅速,生产上难以根除,已成为引起甘薯双生病毒快速扩散和流行的重要原因。许多植物双生病毒的流行和暴发与烟粉虱的带毒率和种群数量密切相关[20-21],由于烟粉虱在植物病毒的传播和流行中起到关键作用,要明确田间烟粉虱的带毒率,进而明确烟粉虱种群动态对甘薯双生病毒发生流行的影响,需要对大量单头烟粉虱携带甘薯双生病毒的情况进行检测。因此,建立针对烟粉虱中甘薯双生病毒快速、准确的检测方法尤为重要。本研究建立了一种用于检测单头烟粉虱中甘薯双生病毒的半巢式 PCR 快速检测方法,该方法可对我国现存的 8 种甘薯双生病毒进行检测,与常规 PCR 检测方法相比,该方法不用提取烟粉虱的 DNA,大大降低了检测成本,节省了时间,且灵敏度高于普通 PCR,结果稳定可靠。与之前建立的烟粉虱中其他双生病毒检测方法相比[15, 17],本研究建立的检测方法具有经济、准确、灵敏度高、特异性好等特点。本研究建立的方法可应用于田间烟粉虱样品的检测,具有较高的应用价值,将为烟粉虱田间带毒率的检测提供技术支撑,对甘薯双生病毒的流行规律和预测预报等研究具有重要意义。

参考文献

[1] ZHANG Shuocheng, LING Kaishu. Genetic diversity of sweet potato begomoviruses in the United States and identification of a natural recombinant between *Sweet potato leaf curl virus* and *Sweet potato leaf curl Georgia virus* [J]. Archive of Virology, 2011, 156 (6): 955-968.

[2] LING Kaishu, JACKSON D M, HARRISON H, et al. Field evaluation of yield effects on the U. S. A. heirloom sweetpotato cultivars infected by *Sweet potato leaf curl virus* [J]. Crop Protection, 2010, 29 (7): 757-765.

[3] GIBSON R W, KREUZE J K. Degeneration in sweetpotato due to viruses, virus-cleaned planting material and reversion: a review [J]. Plant Pathology, 2015, 64 (1): 1-15.

[4] LUAN Yushi, ZHANG Juan, AN Lijia. First report of *Sweet potato leaf curl virus* in China [J]. Plant Disease, 2006, 90 (8): 1111.

[5] LIU Qili, ZHANG Zhenchen, LI Jianqiang, et al. Complete genome sequence of a novel monopartite begomovirus infecting sweet potato in China [J]. Archive of Virology, 2014, 159 (6): 1537-1540.

[6] LIU Qili, ZHANG Zhenchen, QIAO Qi, et al. Complete genome sequence of a novel monopartite begomovirus infecting sweet potato in China [J]. Virus Genes, 2013, 47 (3): 591-594.

[7] QIN Yanhong, ZHANG Zhenchen, QIAO Qi, et al. First report of *Sweet potato leaf curl Georgia virus* on sweet potato in

China [J]. Plant Disease, 2013, 97 (10): 1388 - 1389.

[8] LIU Qili, WANG Yongjiang, ZHANG Zhenchen, et al. Diversity of sweepoviruses infecting sweet potato in China [J]. Plant Disease, 2017, 101 (12): 1 - 6.

[9] ZERBINI F M, BRIDDON R W, IDRIS A, et al. ICTV virus taxonomy profile: Geminiviridae [J]. Journal of General Virology, 2017, 98 (2): 131 - 133.

[10] 李华伟，刘中华，张鸿，等. 甘薯卷叶病毒 LAMP 快速检测技术的建立及应用[J]. 农业生物技术学报，2019，27(6)：1133 - 1140.

[11] 刘起丽. 中国甘薯双生病毒种类鉴定、分子变异及检测方法研究[D]. 北京：中国农业大学，2015.

[12] 王爽，田雨婷，乔奇，等. 侵染甘薯的菜豆金色花叶病毒属病毒和甘薯褪绿矮化病毒多重 PCR 检测方法的建立与应用[J]. 植物保护学报，2018，45(6)：1427 - 1428.

[13] 田雨婷，赵晓立，乔奇，等. 甘薯双生病毒实时荧光定量 PCR 检测方法的建立及应用[J]. 江苏师范大学学报(自然科学版)，2019，37(3)：35 - 39.

[14] 张盼，宋国华，乔奇，等. 烟粉虱中甘薯褪绿矮化病毒(SPCSV)的快速检测技术[J]. 植物保护，2012，38(5)：84 - 87.

[15] 周涛，梁彦，师迎春，等. 检测单头烟粉虱携带番茄黄化曲叶病毒的试剂盒：CN201210274394.0 [P]. 2012 - 11 - 14.

[16] 梁相志，施艳，李静静，等. 利用环介导等温扩增技术(LAMP)检测烟粉虱体内的瓜类褪绿黄化病毒(CCYV)[J]. 华中昆虫研究，2012，8：372.

[17] 陈婷，齐国君，赵蕊，等. 烟粉虱体内木尔坦棉花曲叶病毒的 LAMP 快速检测技术[J]. 环境昆虫学报，2016，38(3)：565 - 571.

[18] UMESAKI Y, SETOYAMA H. Structure of the intestinal flora responsible for development of the gut immune system in a rodent model [J]. Microbes and Infection, 2000, 2(11): 1343 - 1351.

[19] MA Siqi, ZHENG Qiufeng, YE Jiajie, et al. Identification of viruses infecting sweet potato in southern China by small RNA deep sequencing and PCR detection [J]. Journal of General Plant Pathology, 2019, 85 (2): 122 - 127.

[20] 李英梅，白青，王周平，等. 烟粉虱与番茄黄化曲叶病毒病发生关系研究[J]. 中国农学通报，2019，35(4)：102 - 107.

[21] 褚栋，张友军. 近 10 年我国烟粉虱发生为害及防治研究进展[J]. 植物保护，2018，44(5)：51 - 55.

(责任编辑：杨明丽)

(上接 162 页)

[12] 唐艺婷，王孟卿，李玉艳，等. 蠋蝽对斜纹夜蛾幼虫的捕食作用[J]. 中国烟草科学，2020，41(1)：62 - 66.

[13] 潘淑琴，杨显山，苑荣发，等. 蠋敌捕食柳毒蛾数量测定[J]. 吉林林业科技，1993(1)：25 - 26.

[14] 陈静，张建萍，张建，等. 蠋敌对双斑长跗萤叶甲成虫的捕食功能研究[J]. 昆虫天敌，2007，29(4)：149 - 154.

[15] 王文亮，刘芹，闫家河，等. 美国白蛾新天敌-蠋敌捕食能力的初步观察[J]. 山东林业科技，2012(1)：11 - 14.

[16] 潘明真，张海平，张长华，等. 饲养密度和性比对蠋蝽存活和繁殖生物学特性的影响[J]. 中国生物防治学报，2018，34(1)：52 - 58.

[17] ZOU Deyu, COUDRON T A, LIU Chenxi, et al. Nutrigenomic in *Arma chinensis*: transcriptome analysis of *Arma chinensis* fed on artificial diet and Chinese oak silkmoth *Antheraea pernyi* pupae [J/OL]. PLoS ONE, 2013, 8 (4): e60881. DOI: 10.1371/journal.pone.0060881.

[18] ZOU Deyu, COUDRON T A, WU Huihui, et al. Performance and cost comparisons for continuous rearing of *Arma chinensis* (Hemiptera: Pentatomidae: Asopinae) on a zoophytogenous artificial diet and a secondary prey [J]. Journal of Economic Entomology, 2015, 108(2): 454 - 461.

[19] 廖平，苗少明，许若男，等. 新型蠋蝽若虫液体人工饲料效果评价[J]. 中国生物防治报，2019，35(1)：9 - 14.

[20] 高强，王迪，张文慧，等. 蠋蝽对斜纹夜蛾幼虫的捕食作用研究[J]. 中国烟草科学，2019，40(6)：55 - 59.

[21] 杨志浩，孟玲，李保平. 虫龄对蠋蝽捕食斜纹夜蛾幼虫行为参数的影响[J]. 生态学杂志，2019，38(11)：3376 - 3381.

[22] HOLLING C S. Some characteristics of simple types of predation and parasitism [J]. The Canadian Entomologist, 1959, 91 (7): 385 - 398.

[23] 丁岩钦. 昆虫数学生态学[M]. 北京：科学出版社，1994：257 - 258，303 - 304.

[24] 曹雯星，张韬，杨欢，等. 大草蛉对草地贪夜蛾低龄幼虫的捕食功能评价[J]. 植物保护学报，2020，47(40)：839 - 844.

[25] 侯峥嵘，孙贝贝，刘先建，等. 大红犀猎蝽对草地贪夜蛾 3 龄幼虫捕食功能反应[J]. 植物保护学报，2020，47(4)：852 - 858.

[26] 孙贝贝，侯峥嵘，董民，等. 东亚小花蝽对草地贪夜蛾 1 龄幼虫的捕食作用[J]. 植物保护学报，2020，47(4)：845 - 851.

[27] 李萍，李玉艳，向梅，等. 大草蛉幼虫对草地贪夜蛾低龄幼虫的捕食能力评价[J]. 中国生物防治学报，2020，36(4)：513 - 519.

[28] 李玉艳，王孟卿，张莹莹，等. 丽草蛉幼虫对草地贪夜蛾卵及低龄幼虫的捕食能力评价[J]. 植物保护，2021，47(5)：178 - 184.

[29] 巫厚长，程遐年，邹运鼎. 不同饥饿程度的龟纹瓢虫成虫对烟蚜的捕食作用[J]. 应用生态学报，2000，11(5)：749 - 752.

[30] 唐艺婷，郭义，潘明真，等. 蠋蝽对小菜蛾幼虫的捕食作用[J]. 植物保护，2020，46(4)：155 - 160.

[31] 张晓军，张健，孙守慧. 蠋蝽对榆紫叶甲的捕食作用[J]. 中国森林病虫，2016，35(1)：13 - 15.

[32] 吴圣勇. 栗真绥螨生物学及实验种群生态学研究[D]. 北京：中国农业科学院，2011.

[33] 杨柳. 湖南烟区主要烟草害虫发生动态监测及抗性机制研究[D]. 长沙：湖南农业大学，2014.

(责任编辑：杨明丽)