

有翅桃蚜蚜群中新蚜虫痂霉和烟蚜茧蜂的互作关系初探

徐佳, 金武, 陈春*

(中国计量大学生命科学学院/浙江省生物计量与检验检疫重点实验室, 杭州, 310018)

摘要: 虫霉目真菌和蚜茧蜂是蚜虫的重要专性生防因子, 在田间生态系统中存在“共位共处”的现象。本文开展了以新蚜虫痂霉和烟蚜茧蜂为代表的虫霉目真菌和蚜茧蜂在有翅蚜蚜群中的互作研究。有翅蚜“孢子浴”接种新蚜虫痂霉后不同时间间隔(0 d, 1 d, 2 d)再进行蚜茧蜂处理, 试验结果表明: 各处理间的蚜虫感病率差异显著, 且均高于60%; 处理间的僵蚜率则差异不显著, 且均低于15%。而有翅蚜先经寄生再“孢子浴”接种的5组不同间隔时间(1 d, 2 d, 3 d, 4 d, 5 d)处理试验的结果表明, 组间有翅蚜的僵蚜率呈极显著差异, 感病率也呈极显著差异, 且僵蚜率和感病率在间隔4 d组出现明显分界。因此, 在实验室条件下的有翅蚜蚜群中, 新蚜虫痂霉的侵染比烟蚜茧蜂的寄生更具竞争优势, 但它们之间的互作关系不是取代关系, 而是迭代关系。本试验为蚜虫专性病原真菌(特别是虫霉目真菌)更好地联合蚜茧蜂在蚜虫生物防治中开展应用提供科学依据。

关键词: 新蚜虫痂霉; 烟蚜茧蜂; 互作; 有翅蚜

中图分类号: S476 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-9261(2020)03-0437-06

Preliminary Study on the Interaction between *Pandora neoaphidis* and *Aphidius gifuensis* in Alate Population of Green Peach Aphid, *Myzus persicae*

XU Jia, JIN Wu, CHEN Chun*

(China Jiliang University, Zhejiang Provincial Key Laboratory of Biometrology and Inspection & Quarantine, College of Life Sciences, Hangzhou 310018, China)

Abstract: Entomophthoralean fungi and Aphidiidae are important obligate aphid biocontrol agents and co-exist in the field ecosystem. Here, the interaction between *Pandora neoaphidis* and *Aphidius gifuensis*, which are representatives of Entomophthoralean fungi and Aphidiidae, respectively, was studied in alate population of green peach aphid (*Myzus persicae*). The alates were submitted to treatments in which the aphids were inoculated with *P. neoaphidis* prior to expose to *A. gifuensis* at different time intervals. It was found that there were significant differences in the infection rate (all are greater than 60%) between the treatments. However, the parasitism rates (all are less than 15%) were not different between the treatments. To the contrary, when the alates were submitted to treatments in which aphids were exposed to *A. gifuensis* prior to inoculation with *P. neoaphidis* at different time intervals, there were significant differences in the parasitism rate and the infection rate between the treatments. In addition, the parasitism rate and infection rate of the 4-day-interval treatment showed obvious difference from other treatments. The results suggest that *P. neoaphidis* has certain competition advantages over *A. gifuensis* in the aphid population under laboratory conditions. However, their interactions are not substitutional, but iterative. This study provides a new evidence for the combination of obligate aphid-pathogenic fungi (especially Entomophthoralean fungi) with Aphidiidae in the biological control of aphids.

Key words: *Pandora neoaphidis*; *Aphidius gifuensis*; interaction; alates

收稿日期: 2019-10-29

基金项目: 浙江省自然科学基金(LY18C140002); 国家自然科学基金(31461143030)

作者简介: 徐佳, 硕士研究生, E-mail: xiongxiong@jlu@163.com; *通信作者, 教授, 博士, E-mail: aspring@cjlu.edu.cn.

DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2020.03.021

新蚜虫疔霉 (*Pandora neoaphidis*, Entomophthorales) 是虫霉菌门 Entomophthoromycota 的代表菌, 是蚜虫的专性病原真菌 (只感染蚜虫), 也是蚜群中流行最广的生防真菌^[1-3]。烟蚜茧蜂 *Aphidius gifuensis* 是蚜虫的专性寄生天敌, 其寄生作用对蚜虫的生理、生化和生态等方面均产生影响, 是蚜虫生物防治的另一重要控制因子^[4,5]。在“蚜-菌-蜂”田间生态系统中, 新蚜虫疔霉的专性侵染和烟蚜茧蜂的专性寄生在蚜群中常常相伴相随^[6]。

已有研究表明有翅蚜能随上升气流被动远距离迁飞达 1600 km, 近距离主动扩散性迁飞更是不争的生物学常识^[7]; 而有翅蚜的迁飞行为被认为是蚜虫在进化中获得以最适营养为目标的生命策略和生态对策^[8]。在对迁飞性有翅蚜的诱集观察研究发现, 有翅蚜不仅可以携带多种蚜虫专性病原真菌, 而且还会携带传播蚜虫专性寄生蜂如烟蚜茧蜂和菜少脉蚜茧蜂 *Diaeretiella rapae* 等^[9,10]。另外, 研究人员在云南省勐海县的田间系统观察中发现, 在已被新蚜虫疔霉侵染的有翅蚜体内仍然可以钻出并未受真菌侵染的蚜茧蜂幼虫, 这个有趣的现象说明了虫霉菌和蚜茧蜂在有翅蚜体内可能存在“共位共处”的关系, 但它们在有翅蚜蚜群中的互作研究却尚未有相关报道。因此, 本文拟通过有翅蚜感染蚜虫专性病原真菌新蚜虫疔霉和被寄生性天敌烟蚜茧蜂寄生不同处理时间后的蚜虫的僵蚜率以及虫霉感病率来了解它们在有翅蚜蚜群中的互作情况, 为更好的利用它们开展生防应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试菌种及接种体

试验所用菌株新蚜虫疔霉 F98028 (*P. neoaphidis* CCTCC M2016193) 分离自杭州某一自然感病桃蚜 *Myzus persicae* 蚜尸, 现由本实验室长期保藏。侵染性接种体的制备始于将斜面菌种在牛奶蛋黄培养基 (SEMA: 80% SDAY、11.5% 蛋黄及 8.5% 牛奶) 上接种, 在 20 °C 和光周期 12L:12D 的条件下培养 10 d 后, 将菌落挑碎转入 100 mL 锥形瓶中的 30 mL 改良萨氏培养液 (SDB: 4% 葡萄糖、1% 蛋白胨、1% 酵母粉、0.5% 经 0.1% 蔗糖脂肪酸酯乳化的芝麻油) 中。继续在 20 °C 下振荡 (120 r/min) 培养 3 d, 所得菌液再次转接到 250 mL 锥形瓶中扩大培养数日, 获得菌丝稠密的培养液。然后, 将菌液均匀倾倒在琼脂平板上, 吸去多余水分后置于 20 °C 下培养 48 h 等待平板上菌丝处于产孢高峰时即可用于供试有翅蚜的接种^[11]。

1.2 供试有翅桃蚜

在 (23±2) °C, 光周期 12L:12D, 相对湿度 60% 人工气候室条件下用盆栽甘蓝 (品种为京丰 1 号) 植株维持桃蚜的实验种群。采用高密度接虫的饲养方法获得用于“孢子浴”接种和烟蚜茧蜂寄生的强健有翅蚜^[12]。

1.3 新蚜虫疔霉“孢子浴”接种

选取 20 头桃蚜有翅蚜接种采用“孢子浴”方法^[11]。将处于产孢高峰的菌丝平板培养皿倒扣在载有翅蚜的培养皿之上, 间隔 1/4 时间将平板旋转 90 度, 使叶片上的有翅蚜完全暴露在自菌丝平板弹射的分生孢子形成的“孢子浴”之下, 暴露接种时间为 1~2 h, 使接种的孢子剂量 (100 孢子/mm²) 远远超出常规致死剂量, 以保证每头桃蚜尽可能被感染。接种后的有翅蚜转移到在垫有滤纸培养皿内的离体甘蓝叶上, 置于 (23±2) °C, 光周期 12L:12D 光照培养箱中饲养。

1.4 烟蚜茧蜂处理

在含 20 头桃蚜有翅蚜的培养皿内引入雌性蚜茧蜂 15 头, 在黑暗条件下进行寄生处理 60 min 后收回蚜茧蜂, 操作重复 3 次^[9]。每一处理更换新批次雌蜂, 尽可能保证每头成蚜都被烟蚜茧蜂寄生过。将寄生过的有翅蚜转移到新的垫有滤纸培养皿内的离体甘蓝叶上, 置于 (23±2) °C, 光周期 12L:12D 光照培养箱中饲养。

1.5 新蚜虫疔霉和烟蚜茧蜂的互作试验

互作试验方法具体流程如图 1。主要开展以下 2 组试验。互作试验一: 先进行高剂量孢子浴接种后再进行蚜茧蜂寄生。处理方法如下: 0 d 组在进行新蚜虫疔霉孢子浴后马上进行蚜茧蜂处理, 1 d 组在孢子浴后 24 h 进行寄生处理, 2 d 组在孢子浴后 48 h 进行寄生处理, 设置对照组 (不进行蚜茧蜂寄生处理)。试

验重复 3 次。互动试验二：先进行蚜茧蜂寄生，再进行孢子浴接种。处理方法如下：将被寄生的蚜虫分为 5 组，分别在寄生后 1、2、3、4、5 d 进行同等时间的高剂量孢子浴。设置空白对照（未进行新蚜虫病菌孢子浴接种）。试验重复 3 次。蚜虫接种/寄生后在 $(23 \pm 2)^\circ\text{C}$ ，光周期 12L:12D 的生长箱中继续饲养 5 d，记录感病有翅蚜、僵蚜和活蚜的数量。新生若蚜和病死蚜需及时移出。

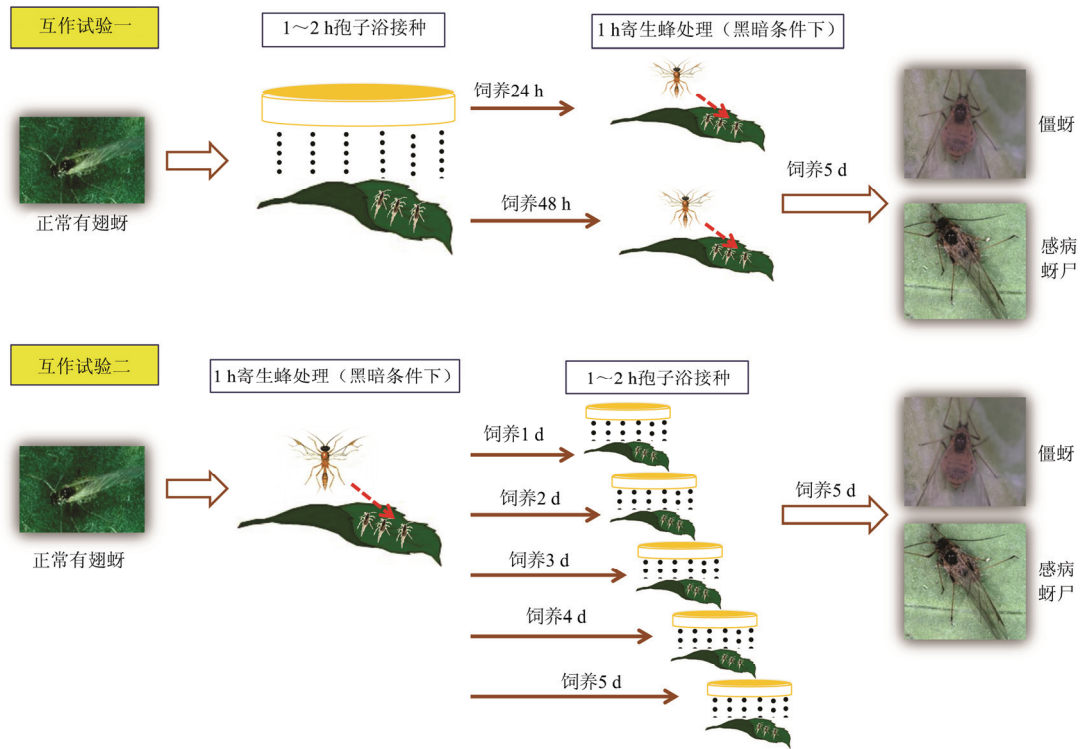


图 1 互动试验流程示意图

Fig. 1 Flow chart of the interaction experiment

1.6 数据统计与分析

所获得的试验数据如蚜虫死亡率、僵蚜出现率以及存活率等利用 DPS 软件进行统计分析^[13]。

2 结果与分析

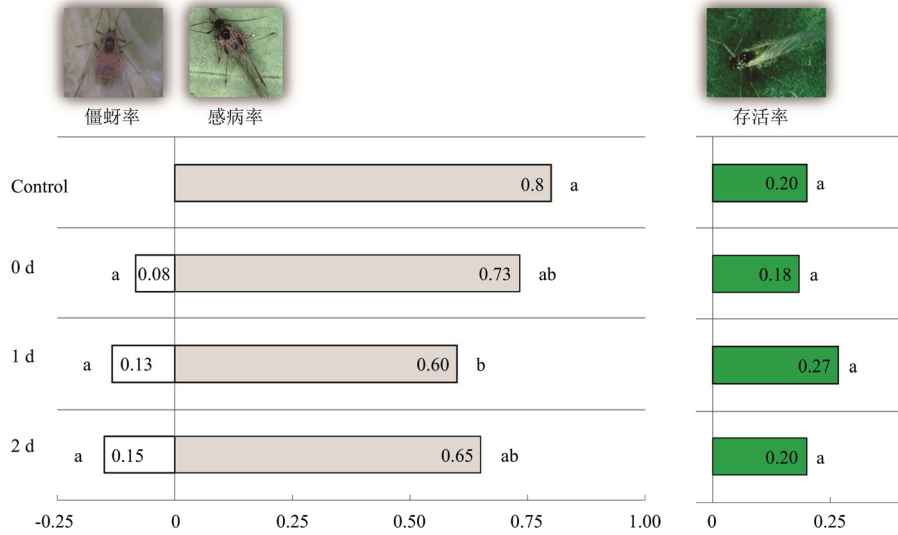
2.1 有翅蚜先“孢子浴”接种再寄生处理的观察试验

有翅蚜“孢子浴”接种新蚜虫病菌后不同时间间隔（0 d，1 d，2 d）再进行蚜茧蜂处理的感病率差异显著（ $F=6.71, P=0.01$ ），其感病率均高于 60%；而这 3 个处理间的僵蚜率随着时间间隔的延长，有增加的趋势，但不显著（ $F=0.87, P=0.46$ ），其僵蚜率均低于 15%。结果表明，有翅蚜容易被新蚜虫病菌（先进行“孢子浴”接种）感染致死，且保持较高的感病率；而后再进行烟蚜茧蜂寄生，有翅蚜产生的僵蚜率则比较低，说明在 23 °C 条件下新蚜虫病菌对蚜虫的侵染能力比烟蚜茧蜂的寄生能力强。另外，试验中对照（Control，即“孢子浴”接种新蚜虫病菌的蚜虫，不进行蚜茧蜂处理）在 7 d 的观察中总感病率为 0.8，其中仍然有一定比例（约 0.2）的蚜虫逃脱侵染，且各个处理均存在不同比例的“豁免”（图 2）。

2.2 有翅蚜先寄生处理再“孢子浴”接种的观察试验

烟蚜茧蜂寄生处理后的蚜虫经过不同时间间隔（1 d，2 d，3 d，4 d，5 d）后再进行“孢子浴”接种新蚜虫病菌，5 个处理中有翅蚜的僵蚜率呈极显著差异（ $F=37.38, P=0.0001$ ），有翅蚜感病率差异极显著（ $F=13.95, P=0.0004$ ）。对照（Control，即只进行寄生处理，而不做“孢子浴”接种的有翅蚜）在 12 d 的观察中僵蚜率为 0.97，而试验中最长间隔时间（5 d）的试验处理中僵蚜率为 0.68，两者比较差异显著，而新蚜虫病菌仍有 0.27 的感病率，这说明了新蚜虫病菌对受蚜茧蜂寄生达 5 d 的即将形成僵蚜有翅蚜仍具

有侵染能力，且能形成感病现象。间隔时间分别为 3 d、2 d、1 d 的试验处理中，寄生形成的僵蚜率则处在一个显著较低的比例，分别仅为 0.33、0.18 和 0.18；而这 3 个处理试验中的虫霉感病率却显著地高于 4 d、5 d 间隔处理组，分别为 0.62、0.77 和 0.78。试验结果表明，随着蚜茧蜂寄生后接菌时间间隔延长，感病率逐渐下降。间隔 4 d 组的试验结果就出现了明显的分界，僵蚜率与 1 d、2 d、3 d 组出现显著差异；间隔 4 d 组的感病率虽然与 3 d 组没有显著差异，但与 1 d、2 d 出现显著差异（图 3）。

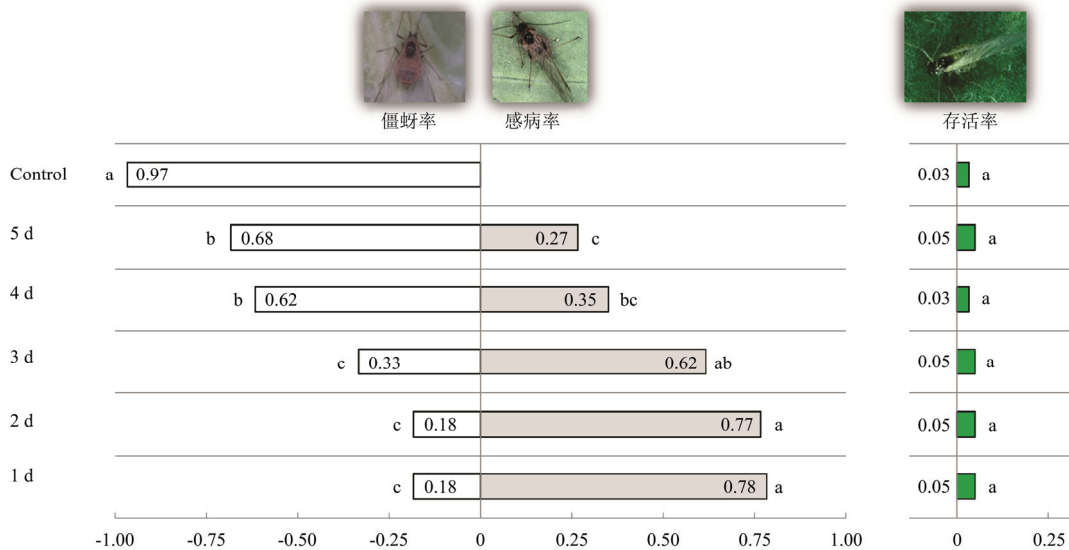


注：图中多重比较分析基于不同间隔时间段；不同小写字母表示差异显著， $P < 0.05$ 。

Note: Multiple comparison analyses are carried out in different time intervals; different lowercase letters indicate significant difference, $P < 0.05$.

图 2 “孢子浴”接种新蚜虫病菌后不同时间间隔再进行烟蚜茧蜂处理的蚜虫僵蚜率、感病率和存活率

Fig. 2 Parasitism, infection and survival rate of *M. persicae* alates submitted to treatments in which aphids were inoculated with *P. neoaphidis* prior to expose to *A. gifuensis* in different time intervals



注：图中多重比较分析基于不同间隔时间段；不同小写字母表示差异显著， $P < 0.05$ 。

Note: Multiple comparison analyses are carried out in different time intervals; different lowercase letters indicate significant difference, $P < 0.05$.

图 3 烟蚜茧蜂处理后不同时间间隔再进行新蚜虫病菌“孢子浴”接种的蚜虫僵蚜率、感病率和存活率

Fig. 3 Parasitism, infection and survival rate of *M. persicae* alates submitted to treatments in which aphids were exposed to *A. gifuensis* prior to inoculate with *P. neoaphidis* in different time intervals

3 讨论

在田间诱集观察试验中发现: 4.4%的迁飞有翅蚜是被蚜茧蜂寄生的, 其中烟蚜茧蜂占 52.9%, 菜小脉蚜茧蜂 *Diaeretella rapae* 占 47.1%; 而 29%的迁飞有翅蚜被虫霉感染, 说明有翅蚜能够以较高的比例同时携带寄生性天敌和虫霉真菌^[9]。本试验结果表明, 23 °C 条件下新蚜虫疔霉对有翅蚜的侵染能力比相同条件下(甚至给予一定提前寄生时间或者寄生间隔时间)烟蚜茧蜂寄生有翅蚜形成僵蚜的能力要强, 形成更高比例的有翅蚜感病率(这与田间诱集观察结果相符), 即可能会对宿主的侵染形成竞争优势。这可能与烟蚜茧蜂发育所需天数有关, 在 25 °C 条件下, 从接种到形成僵蚜, 其发育天数约为 10 d^[14]; 而新蚜虫疔霉的感染发病时间约为 3~4 d^[2]。在本试验的有翅蚜先寄生再“孢子浴”接种的观察中, 间隔 4 d 组的试验处理就出现了明显的界限(图 3), 这也可能与新蚜虫疔霉侵染后发病的时间约为 3~4 d 有关。

在田间生态系统中, 有报道显示部分生防真菌可直接侵染蚜虫天敌蚜茧蜂, 或被直接喷雾接种球孢白僵菌的烟蚜茧蜂成蜂寿命缩短^[15,16], 多种蚜虫非专性病原真菌及其他杂菌可以侵染并能杀死蚜茧蜂^[17]。但这种现象不可能在新蚜虫疔霉和烟蚜茧蜂这两类专性天敌的范围内发生。蚜虫专性病原真菌(如新蚜虫疔霉)具有较专一的寄主范围, 并不会感染蚜茧蜂, 也不会感染瓢虫等天敌生物, 甚至有报道显示捕食性天敌可以通过食用正在弹孢的蚜虫尸体, 增加病原菌的流行比例^[18]。虽然虫霉目真菌的流行可以与自然寄生性天敌发生剧烈的“集团内”竞争, 但是对它们各自的生防效果并没有明显影响^[6,19]。寄生蜂仅仅不会在受虫霉侵染且已经弹孢的蚜尸上产卵, 而在其他不同侵染阶段的感病蚜虫产卵均不受影响^[20]。因此, 蚜虫专性病原真菌, 特别是虫霉目真菌将会是蚜虫生物防治中可以联合寄生蜂使用并产生“叠加效应”的重要生防因子。

本试验仅进行了 23 °C 条件下以新蚜虫疔霉和烟蚜茧蜂为代表的虫霉目真菌和寄生性天敌在有翅蚜群中的互作情况, 故本试验结果只是体现在实验室条件下的“新蚜虫疔霉—有翅桃蚜—烟蚜茧蜂”生态模型系统, 不能完全代表在野外条件下发生的所有相互作用。在更为复杂的田间环境中, 温湿度等环境条件及小气候条件的影响下, 新蚜虫疔霉和烟蚜茧蜂的时空分离会影响蚜虫种群的整体水平, 它们对蚜虫的防治作用不是取代关系, 而是迭代关系。因此, 为了更全面地了解新蚜虫疔霉和蚜茧蜂之间的竞争性相互作用及其对种群动态的影响, 需要进一步研究真菌和寄生蜂在农业生态系统内不同寄主和环境中的田间季节的时空分布, 以及寄主蚜虫体内共生菌和免疫系统的应答机制。

参 考 文 献

- [1] 冯明光. 中国虫生真菌研究与应用, 卷 4: 虫霉流行病及其对害虫种群的天然控制与利用[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1997, 6-17.
- [2] 李增智. 中国真菌志, 卷 13: 虫霉目[M]. 北京: 科学出版社, 2000, 1-168.
- [3] Hu Y Q, Chen C, Ye S D, *et al.* Development of a novel isolation unit for entomophthoralean fungi[J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2018, 155: 1-4.
- [4] Starý P. Aphidiidae[M]// Minks A K, Harrewijn P A, eds. *Aphids, Their Biology, Natural Enemies and Control* (Vol. B). Amsterdam, The Netherlands: Elsevier, 1988, 171-203.
- [5] Jaber L R, Araj S E. Interactions among endophytic fungal entomopathogens (Ascomycota: Hypocreales), the green peach aphid *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera: Aphididae), and the aphid endoparasitoid *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae)[J]. *Biological Control*, 2018, 116: 53-61.
- [6] Baverstock J, Clark S J, Alderson P G, *et al.* Intraguild interactions between the entomopathogenic fungus *Pandora neoaphidis* and an aphid predator and parasitoid at the population scale[J]. *Journal of Invertebrate Pathology*, 2009, 102(2): 167-172.
- [7] Robert Y. Dispersion and migration[M]//Minks A K, Harrewijn P, eds. *Aphids, Their Biology, Natural Enemies and Control* (Vol. A). Elsevier, Amsterdam, Netherlands, 1987, 299-313
- [8] Dixon A F G. Seasonal development in aphids[M]//Minks A K, Harrewijn P, eds. *Aphids, Their Biology, Natural Enemies and Control*. Amsterdam, Netherlands: Elsevier, 1987, 315-320.
- [9] Feng M G, Chen C, Shang S W, *et al.* Aphid dispersal flight disseminates fungal pathogens and parasitoids as natural control agents of aphid[J]. *Ecological Entomology*, 2007, 32: 97-104.
- [10] Feng M G, Chen C, Chen B. Wide dispersal of aphid-pathogenic Entomophthorales among aphids relies upon migratory alates[J]. *Environmental*

- Microbiology, 2004, 6: 510-516.
- [11] Chen C, Ye S D, Hu H J, *et al.* Use of electrical penetration graphs (EPG) and quantitative PCR to evaluate the relationship between feeding behaviour and *Pandora neoaphidis* infection levels in green peach aphid, *Myzus persicae*[J]. Journal of Insect Physiology, 2018, 104: 9-14.
- [12] Chen C, Feng M G. Probability model for the postflight fecundity of viviparous alatae infected preflight by the obligate aphid pathogen *Pandora neoaphidis*[J]. Biological Control, 2006, 39: 26-31.
- [13] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统[M]. 北京: 科学出版社, 2002, 1-648.
- [14] 吴兴富, 李天飞, 魏佳宁, 等. 温度对烟蚜茧蜂发育、生殖的影响[J]. 动物学研究, 2000, 21(3): 192-198.
- [15] 李涛, 刘映红, 张永军. 球孢白僵菌对烟蚜茧蜂寄生行为的影响[J]. 植物保护学报, 2007, 34(4): 401-404.
- [16] González-Mas N, Cuenca-Medina M, Gutiérrez-Sánchez F, *et al.* Bottom-up effects of endophytic *Beauveria bassiana* on multitrophic interactions between the cotton aphid, *Aphis gossypii*, and its natural enemies in melon[J]. Journal of Pest Science, 2019, 92(3): 1271-1281.
- [17] 刘德波, 代艳梅, 文灿, 等. 烟蚜茧蜂载菌菌种与载菌方式筛选[J]. 中国生物防治, 2008, 24(3): 239-243.
- [18] Wells P M, Baverstock J, Majerus M E N, *et al.* The effect of the coccinellid *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) on transmission of the fungal pathogen *Pandora neoaphidis* (Entomophthorales: Entomophthoraceae)[J]. European Journal of Entomology, 2011, 108(1): 87-90.
- [19] Ignoffo C M. The fungus *Nomuraea rileyi* as a microbial insecticide[M]//Burgess H D, ed. Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-80. New York: Academic Press, 1981, 513-536.
- [20] Baverstock J, Alderson P G, Pell J K. Influence of the aphid pathogen *Pandora neoaphidis* on the foraging behaviour of the aphid parasitoid *Aphidius ervi*[J]. Ecological Entomology, 2005, 30: 665-672.