

短时高温胁迫对携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨的生物学特性的影响*

刘明秀^{1**} 尼玛玉珍^{2**} 冯小天¹ 李宣良¹ 杨 瑒¹
张开军¹ 相 栋² 陈翰秋² 李亚迎^{1***} 刘 怀^{1***}

(1. 西南大学植物保护学院, 昆虫学及害虫控制工程重庆市重点实验室, 长江上游农业生物安全与绿色生产教育部重点实验室, 重庆 400715; 2. 西藏自治区农牧科学院蔬菜研究所, 拉萨 850032)

摘要 【目的】评价短时高温胁迫对携带球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* (Vuillemin)的巴氏新小绥螨 *Neoseiulus barkeri* (Hughes)的生物学特性的影响, 明确短时高温环境下巴氏新小绥螨携带球孢白僵菌联合应用防控柑橘始叶螨 *Eotetranychus kankitus* (Ehara)的可行性。【方法】测定 35 °C 高温胁迫 2、4 和 6 h 后巴氏新小绥螨携带的球孢白僵菌 Bb025 菌株孢子的残留量, 评价 35 °C 高温胁迫 4 h 对携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨对柑橘始叶螨的捕食功能反应及其发育和繁殖的影响。【结果】35 °C 高温短时胁迫 2、4 和 6 h 后, 巴氏新小绥螨雌成螨携带的孢子数量和 25 °C 不同处理时间处理后所携带的孢子数量无显著差异 ($\chi^2 = 0.001$, $P = 0.978$)。尽管随处理时间的延长巴氏新小绥螨携带的孢子数量逐渐减少, 但在 6 h 仍能达到 10^5 个数量级。此外, 携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨雌成螨在 35 °C 高温胁迫 4 h 后对柑橘始叶螨若螨的捕食量与 25 °C 处理时无显著性差异 ($P > 0.05$), 且其对柑橘始叶螨若螨的捕食潜能 (a'/T_h) 小幅增加; 但每日 35 °C 高温胁迫 4 h 下, 携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨发育加快、产卵前期延长、产卵量和寿命降低。【结论】短时高温环境下, 巴氏新小绥螨仍可携带大量的球孢白僵菌孢子, 携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨对柑橘始叶螨具有较好的防控能力, 但短时高温对携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨的生殖和寿命等方面存在不利影响。本研究结果对研发菌螨协同联合应用的可持续性综合防控柑橘害螨的策略具有一定指导的意义。

关键词 球孢白僵菌; 巴氏新小绥螨; 高温胁迫; 捕食功能反应; 联合应用

The effect of short-term high temperature stress on the biological characteristics of *Neoseiulus barkeri* (Hughes) carrying *Beauveria bassiana* (Vuillemin)

LIU Ming-Xiu^{1**} NIMA Yu-Zhen^{2**} FENG Xiao-Tian¹ LI Xuan-Liang¹ YANG Yang¹
ZHANG Kai-Jun¹ XIANG Dong² CHEN Han-Qiu² LI Ya-Ying^{1***} LIU Huai^{1***}

(1. Key Laboratory of Entomology and Pest Control Engineering, College of Plant Protection, Southwest University, Key Laboratory of Agricultural Biosafety and Green Production of Upper Yangtze River, Chongqing 400715, China;
2. Institute of Vegetable, Xizang Academy of Agriculture and Animal Husbandry Sciences, Lhasa 850032, China)

Abstract [Aim] To determine the effect of short-term high temperature stress on the biological characteristics of *Neoseiulus barkeri* (Hughes) carrying *Beauveria bassiana* (Vuillemin). The findings of this study will determine the feasibility of using *N. barkeri* carrying *B. bassiana* for the control of *Eotetranychus kankitus* (Ehara) in short-term high temperature environments. [Methods] The residual amount of *B. bassiana* conidia carried by *N. barkeri* was counted following exposure

*资助项目 Supported projects: 重庆市现代山地特色高效农业蔬菜产业技术体系项目 (2020[4-6]); 中央高校基本科研业务费 (SWU-KQ22019); 西藏自治区科技项目 (XZ202301ZY0014N)

*共同第一作者 Co-first authors, E-mail: lmx0044@126.com; 2303388920@qq.com

***共同通讯作者 Co-corresponding authors, E-mail: liyaying@swu.edu.cn; liuhuai@swu.edu.cn

收稿日期 Received: 2023-02-28; 接受日期 Accepted: 2024-01-16

to high-temperature stress at 35 °C for 2, 4, and 6 hours. We evaluated the functional response of *B. bassiana*-carrying *N. barkeri* in controlling *E. kankitus*, and its effects on development and fecundity following exposure to high-temperature stress at 35 °C for 4 hours. **[Results]** After 2, 4, and 6 hours of short-term high temperature stress at 35 °C, there was no significant difference in the number of conidia carried by female *N. barkeri* compared to 25 °C ($\chi^2 = 0.001, P = 0.978$). The number of conidia carried gradually decreased over time. However, one female *N. barkeri* still carried 10^5 conidia after 6 hours. Additionally, after 4 hours of high-temperature stress at 35 °C, there was no significant change in the predation rate of *B. bassiana*-carrying *N. barkeri* female on *E. kankitus* nymphs compared to the rate at 25 °C ($P > 0.05$), although the predation potential (a'/T_h) did increase slightly. However, when exposed to high-temperature stress at 35 °C for 4 hours per day, *B. bassiana*-carrying *N. barkeri* exhibited accelerated development, a prolonged pre-oviposition period, reduced fecundity, and a decreased lifespan. **[Conclusion]** Under short-term high temperature conditions, *N. barkeri* can carry a substantial amount of *B. bassiana* conidia. Furthermore, when *N. barkeri* carries *B. bassiana*, it is still able to effectively control *E. kankitus*. However, it is important to note that exposure to short-term high temperature stress negatively impacts the reproduction and lifespan of *N. barkeri* carrying *B. bassiana*. This study provides valuable insights for the development of sustainable and integrated strategies to control citrus pest mites by combining the use of fungi and predatory mites.

Key words *Beauveria bassiana*; *Neoseiulus barkeri*; high temperature stress; function response; coordinated application

柑橘害螨寄主广泛、个体小、繁殖力强、世代重叠明显、易产生抗药性、难防难治,是制约我国柑橘产业发展的主要问题之一(Ullah *et al.*, 2022)。柑橘害螨主要包括瘿螨、叶螨和跗线螨3科。在繁多的柑橘害螨中以柑橘全爪螨 *Panonychus citri* (Mc-Gregor)和柑橘始叶螨 *Eotetranychus kankitus* (Ehara)为代表的柑橘叶螨分布于我国大部分柑橘产区(Migeon *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2014),可危害柑橘嫩梢、叶片、花蕾和果实,以春梢和秋梢嫩叶受害较为严重,柑橘叶片受害后形成黄斑、凹陷皱缩或扭曲呈畸形,大量发生时可造成果树大量落叶、落花和落果、影响树势,最终降低果实产量(Zhou *et al.*, 1999; 宋子伟等, 2022)。

单独释放捕食螨或施用虫生真菌是害虫害螨治理中生物防治的重要手段,已被证实是防治柑橘叶螨的有效措施(Shi and Feng, 2006; Li *et al.*, 2017; 杨瑒, 2019)。巴氏新小绥螨 *Neoseiulus barkeri* (Hughes)隶属于蜱螨亚纲 Acari 寄螨目 Parasitiformes 植绥螨科 Phytoseiidae 新小绥螨属 *Neoseiulus*,在我国大部分地区均有分布,广泛应用于温室蔬菜、设施草莓、果园等作物系统中小型节肢有害生物的防控(江高飞等, 2012; Wu *et al.*, 2017)。巴氏新小绥螨以柑橘叶螨为猎物的种群参数和捕食功能反应结果表明其具有防治柑橘叶螨的潜能(Li *et al.*, 2017)。球孢

白僵菌 *Beauveria bassiana* (Vuillemin)隶属丝孢霉纲 Hyphomycetes 丝孢目 Moniliales 丛梗孢科 Moniliales 白僵菌属 *Beauveria*,广泛分布于全世界,具有致病力强、寄主范围广等优点,应用于有害生物的综合防治,对叶螨具有较高的致病力(Mascarin and Jaronski, 2016)。杨瑒(2019)筛选了对柑橘叶螨具有高毒力的球孢白僵菌 Bb025 菌株,明确其具有控制柑橘叶螨种群爆发的潜能。相较于应用单一天敌,联合应用多种天敌资源是有害生物绿色可持续防控的重要手段。其中,联合应用捕食螨和虫生真菌是有害生物生物防治的重要举措(Wu *et al.*, 2014)。在田间,捕食螨通过主动搜索和扩散,携带生防真菌孢子并将孢子传播至农事操作中常规喷雾无法覆盖的地方。因此,利用捕食螨搭载对其不具有拮抗作用的生防真菌构建携菌体这一生物防治思路可以起到对害虫增效的防治作用(Zhang *et al.*, 2015; Trandem *et al.*, 2016; Castillo-Ramírez *et al.*, 2020)。

夏秋季高温是制约天敌控害稳定性并导致防控失衡的重要因素(Guzmán *et al.*, 2016)。我国长江中下游和西南、华南柑橘种植区,夏季6-8月日均温35 °C以上的持续性高温天可达数十天。夏季短时高温和干燥的环境(温度28-35 °C、相对湿度30%-50%)会加重高温活动型叶螨的发生与危害现象,如柑橘全爪螨、柑橘始叶

螨、二斑叶螨 *Tetranychus urticae* (Koch)及山楂叶螨 *T. viennesis* (Zacher)等。相较于叶螨,天敌对高温和干旱的条件更为敏感、抗逆性更弱,叶螨极有可能会摆脱天敌的控制而爆发成灾。目前,已有研究表明高温环境对捕食螨和生防菌均具有不利影响。在 32 °C 高温条件下,巴氏新小绥螨对二斑叶螨的捕食能力下降(张国豪, 2017)。高温也会抑制虫生真菌孢子萌发、菌丝生长的整个过程(Kryukov *et al.*, 2018)。研究发现虽然较高的温度更有利于虫生真菌的萌发侵入,但是较高的温度也会影响球孢白僵菌分生孢子的存活,并降低其对害虫的防控效果(Bugeme *et al.*, 2009)。因此,构建耐高温的捕食螨携菌体对提升害虫的防治效果具有重要的实践意义,但目前高温胁迫对携带白僵菌的捕食螨的生物学特性的影响尚不明确。

本研究以巴氏新小绥螨、球孢白僵菌 Bb025 株系和共同的靶标猎物柑橘始叶螨为研究对象。前人研究中发现球孢白僵菌对巴氏新小绥螨致死率较低,对巴氏新小绥螨的繁殖和寿命等种群参数也无显著影响(Wu *et al.*, 2014)。此外,被取食进入巴氏新小绥螨体内的球孢白僵菌孢子在 24 h 内趋于溶解,对捕食螨的毒性较低(Wu *et al.*, 2016)。杨场(2019)的研究中进一步发现高温胁迫 4 h 后球孢白僵菌 Bb025 对巴氏新小绥螨的毒力降低而对柑橘始叶螨的致病力不受高温胁迫的影响。柑橘始叶螨常群集于柑橘叶片背面吸取汁液,在叶背吐丝结网,常规喷雾白僵菌难以覆盖到叶背(Wang *et al.*, 2014)。巴氏新小绥螨能感知虫害诱导植物挥发物,向叶螨集聚的区域扩散(胡军华等, 2016; Hekmat *et al.*, 2017)。理论预测,高温环境下利用巴氏新小绥螨搭载球孢白僵菌能增强对柑橘始叶螨的控制效能。本研究开展了短时高温胁迫对携带球孢白僵菌 Bb025 株系的巴氏新小绥螨生物学特性的影响研究,测定了在 35 °C 短时高温胁迫下,巴氏新小绥螨在 2、4 和 6 h 胁迫时间下携带球孢白僵菌孢子的残留数量;35 °C 短时高温胁迫 4 h 对巴氏新小绥螨携菌体对叶螨的捕食功能反应的影响;捕食螨发育和繁殖期间每日 35 °C 短时高温胁迫 4 h 对捕食螨携菌体的生长发育及繁殖

的影响。为评估高温胁迫下巴氏新小绥螨和球孢白僵菌两者联合应用构建捕食螨携菌体防控柑橘始叶螨的潜力提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 供试菌株

供试菌株球孢白僵菌 Bb025 由西南大学生物技术中心提供,在 PDA 试管中保存于 4 °C 冰箱。试验前,将保存于 4 °C 冰箱中的 PDA 斜面上的球孢白僵菌刮下,用无菌水(含 0.01% 的吐温 - 20)悬浮并漩涡振荡约 10 min,使球孢白僵菌孢子与菌丝充分分离,用三层无菌纱布过滤,获得球孢白僵菌孢子悬浮液,随后于超净工作台用移液枪吸取 20 μ L 孢子悬浮液置于无菌 PDA 培养基接种,水平放置 30 min 以上,待菌液吸附于培养基上,用封口膜密封培养皿,25 °C 培养 14-15 d 备用。

1.2 供试螨源

柑橘始叶螨于 2017 年采自四川省安岳县柠檬树,在实验室以柑橘叶碟为饲养基质,单头纯化饲养后建立试验种群。巴氏新小绥螨于 2012 年引自中国农业科学院植物保护研究所天敌昆虫保护与利用课题组,引入后采用海绵水盆法饲养,以二斑叶螨混合螨态为猎物建立巴氏新小绥螨试验种群。柑橘始叶螨和巴氏新小绥螨试验种群均饲养在温度为(25 \pm 1)°C、相对湿度 75% \pm 5%、光周期 14 L : 10 D 的人工气候箱(LAC-250HPY-T, 上海龙跃仪器设备有限公司)内。

1.3 孢子悬浮液制备

孢子悬浮液制备:用勺子将 PDA 培养基上培养 14-15 d 的球孢白僵菌孢子轻轻刮下,置于无菌水(含 0.05% 的吐温 - 80)中,并在涡旋振荡器上充分震荡均匀后,用三层无菌纱布进行过滤,即可获得孢子悬浮液。

孢子悬浮液浓度测定:将球孢白僵菌孢子悬浮液置于涡旋振荡器充分摇匀后,用移液枪吸取少量菌液,置于血球计数板并在显微镜 40 倍镜下进行观察、计数。根据血球计数板的计算公式,求得所配制的球孢白僵菌孢子悬浮液浓度,再用

0.05%吐温-80 溶液进行稀释, 配出试验所需浓度的孢子悬浮液。

1.4 短时高温胁迫下巴氏新小绥螨携带球孢白僵菌孢子的残留量测定

采用喷雾法, 将带捕食螨的柑橘叶碟置于喷雾塔下(每叶碟 10 头 14-15 日龄的受孕巴氏新小绥螨雌成螨), 用移液枪取 1 mL 球孢白僵菌 Bb025 (浓度为 1×10^8 个孢子 \cdot mL $^{-1}$) 悬浮液注入喷雾塔中进行喷雾。喷菌处理后, 将叶碟置于 35 °C 培养箱中分别进行 2、4 和 6 h 高温胁迫, 高温胁迫后将捕食螨挑入装有 200 μ L 0.05%吐温-80 无菌水的离心管中, 离心、震荡、摇匀, 以清洗捕食螨身上的孢子, 用血球计数板测定出孢子含量。对照为常温处理, 对捕食螨进行喷菌处理后在 25 °C 培养箱中分别培养 2、4 和 6 h。处理和对照各重复 5 次。喷菌处理前, 先后用 3% 的次氯酸钠溶液和蒸馏水处理捕食螨, 用于去除捕食螨体壁上的杂菌。

1.5 短时高温胁迫对携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨的捕食功能反应的影响

试验共设置 3 种处理: (1) 球孢白僵菌处理的巴氏新小绥螨捕食柑橘始叶螨若螨; (2) 巴氏新小绥螨捕食经球孢白僵菌处理的柑橘始叶螨若螨; (3) 球孢白僵菌处理过的巴氏新小绥螨捕食球孢白僵菌处理后柑橘始叶螨若螨。猎物柑橘始叶螨若螨的密度梯度设置为 5、10、15、20 和 25 头。按照试验处理及密度梯度设置将巴氏新小绥螨 14-15 日龄受孕雌成螨进行或不进行喷菌处理后再经高温 35 °C, 4 h 胁迫处理后和进行或不进行喷菌处理的猎物组合(喷菌处理的球孢白僵菌 Bb025 浓度为 1×10^8 个孢子 \cdot mL $^{-1}$, 喷雾量 1 mL)。24 h 后, 观察记录柑橘始叶螨若螨被捕食螨捕食的数量。每处理重复 6 次。捕食螨捕食期间的试验温度为 (25 ± 1) °C, 相对湿度为 $75\% \pm 5\%$, 光周期 14 L : 10 D。

1.6 短时高温胁迫对携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨发育及繁殖的影响

参照张国豪(2017)巴氏新小绥螨产卵孵育器制做巴氏新小绥螨临时产卵的水培装置, 挑取

巴氏新小绥螨饱食的受孕雌成螨 150-200 头产卵 6 h 后获得初孵卵。将初孵卵挑至叶碟后以喷雾法(球孢白僵菌 Bb025 浓度为 1×10^8 个孢子 \cdot mL $^{-1}$, 喷雾量 1 mL) 处理获得携带球孢白僵菌的捕食螨卵, 将处理后的初孵卵(< 6 h) 单粒转移至 2.5 cm 柑橘叶碟中, 逐日观察记录巴氏新小绥螨的发育情况, 直至其发育为成螨停止观察(发育过程中无捕食螨死亡)。从饲养区域挑取大量巴氏新小绥螨后若螨至临时水培装置, 待羽化为雌成螨(< 6 h) 后以喷雾法进行喷菌处理获得捕食螨携菌体, 喷菌处理后将单头初孵雌成螨转移至柑橘叶碟, 再挑入未经喷菌处理的单头雄螨进行配对, 逐日观察记录巴氏新小绥螨雌成螨的繁殖情况直至雌成螨死亡。

在巴氏新小绥螨发育和繁殖试验期间以柑橘始叶螨为猎物, 每日更换试验叶碟和猎物。处理组发育期间每日进行短时高温胁迫(35 °C, 4 h), 胁迫后置于 25 °C, RH $75\% \pm 5\%$ 、光周期 14L : 10D 人工气候箱饲养, 对照为喷菌处理后的捕食螨, 持续置于 25 °C 人工气候箱饲养, 巴氏新小绥螨发育和繁殖情况的处理和对照各重复 30 头捕食螨。

1.7 数据分析

试验数据采用 SPSS 26.0 软件进行分析。采用广义线性模型 (Generalized linear model, GLM) 分析巴氏新小绥螨携带的球孢白僵菌孢子的残留量 (正态分布), 以是否高温处理和时长作为解释变量。采用 Holling-II 型公式对巴氏新小绥螨对柑橘始叶螨若螨的功能反应进行拟合计算, 该圆盘方程为: $N_a = a' T N_0 / (1 + a' T_h N_0)$ 。其中, N_a 为柑橘始叶螨实际被捕食量, N_0 为柑橘始叶螨的初始密度, T 为试验所用时间, a' 为捕食螨对柑橘始叶螨的瞬时攻击率, T_h 为巴氏新小绥螨处理一头柑橘始叶螨若螨所需时间。高温胁迫处理下携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨的对叶螨的捕食量、发育历期、产卵前期、总产卵量和雌成螨寿命与常温 25 °C 处理下的差异分析均采用独立样本 T 检验进行比较 (Independent samples t -test, $P < 0.05$)。图形绘制采用 GraphPad Prism 8.0 软件。

2 结果与分析

2.1 短时高温胁迫下巴氏新小绥螨携带球孢白僵菌孢子的残留量

短时高温胁迫下巴氏新小绥螨携带球孢白僵菌孢子的残留量如图 1。高温胁迫下捕食螨仍可以携带大量的球孢白僵菌孢子, 25 和 35 °C 处理下巴氏新小绥螨携带的孢子量无显著差异 ($\chi^2 = 0.001, P = 0.978$)。35 °C 高温胁迫 2 h 后, 每头巴氏新小绥螨雌成螨体表残留 3.45×10^5 个孢子, 随温度胁迫时间延长, 孢子数量虽有所降低 ($\chi^2 = 39.856, P < 0.001$), 在 6 h 仍能达到 10^5 个数量级。

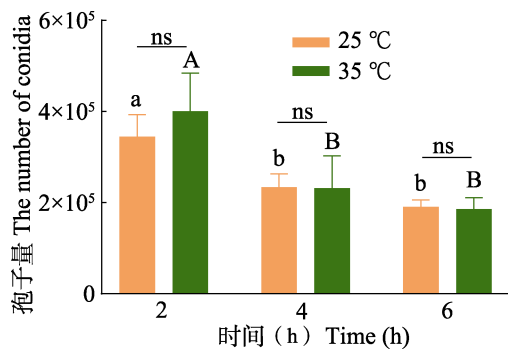


图 1 短时高温胁迫下巴氏新小绥螨携带的球孢白僵菌孢子的残留量

Fig. 1 Effect of short-term heat stress on the residue amount of *Beauveria bassiana* conidia carried by female *Neoseiulus barkeri*

数据为平均数±SE; 柱上标有不同的小写和大写字母分别代表 25 和 35 °C 处理不同时间下巴氏新小绥螨携带的孢子残留量存在显著差异 (广义线性模型, $P < 0.05$); ns 表示同一时间不同温度处理下巴氏新小绥螨携带球孢白僵菌孢子的残留量无显著差异 (广义线性模型, $P > 0.05$)。

Data are mean ± SE; Different lowercase letters and capital letters above bars indicate significant difference in the residue amount of conidia carried by *N. barkeri* at different time when exposed to temperature of 25 and 35 °C, respectively (Generalized linear model, $P < 0.05$). The symbol ns represents no significant difference in the residue amount conidia carried by *N. barkeri* at the different temperatures (Generalized linear model, $P > 0.05$).

2.2 短时高温胁迫对携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨捕食功能反应的影响

短时 35 °C 高温胁迫时, 携带球孢白僵菌的

巴氏新小绥螨对柑橘始叶螨, 巴氏新小绥螨对球孢白僵菌处理过的柑橘始叶螨, 携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨对球孢白僵菌处理过的柑橘始叶螨的捕食量均低于 25 °C 常温处理。但仅携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨或者仅球孢白僵菌处理柑橘始叶螨时, 35 °C 高温处理和 25 °C 处理下巴氏新小绥螨对叶螨的捕食量无显著差异 (图 2: A, B)。当携带球孢白僵菌的巴氏新小

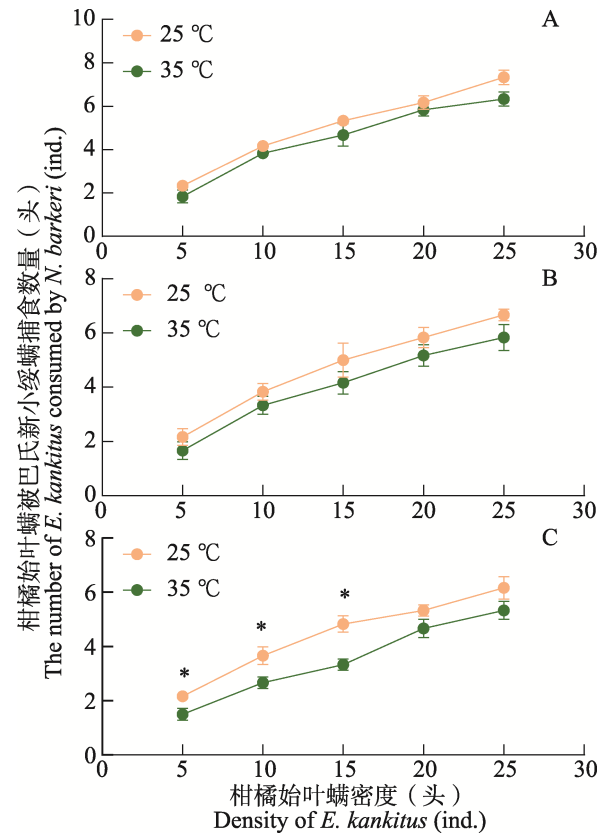


图 2 短时高温胁迫下巴氏新小绥螨对柑橘始叶螨若螨各密度下的捕食量

Fig. 2 Mean number of nymphs of *Eoteranchus kankitus* consumed by female of *Neoseiulus barkeri* at different densities under short-term high temperature stress

A. 球孢白僵菌处理巴氏新小绥螨; B. 球孢白僵菌处理柑橘始叶螨; C. 球孢白僵菌处理巴氏新小绥螨和柑橘始叶螨。数据为平均数±标准误; 折线上标有*表示同一叶螨密度不同温度处理下巴氏新小绥螨对叶螨的捕食量存在显著性差异 (独立样本 t 检验, $P < 0.05$)。

A. *N. barkeri* treated with *B. bassiana*; B. *E. kankitus* treated with *B. bassiana*; C. *N. barkeri* and *E. kankitus* both treated with *B. bassiana*. Data are mean ± SE, broken lines with * represent significant difference in the number of spider mites consumed by *N. barkeri* at the different temperatures (Independent samples t -test, $P < 0.05$).

绥螨捕食球孢白僵菌处理的柑橘始叶螨时, 在柑橘始叶螨初始密度为 5、10 和 15 头时, 35 °C 处理下的捕食螨的捕食量显著低于对照组(图 2:C)。

用 Holling-II 方程进行拟合, 相关系数 R^2 均在 0.98 以上, 说明方程的拟合性较好。Holling-II 模型参数显示 35 °C 胁迫下巴氏新小绥螨对柑橘

始叶螨的攻击率 (a') 均降低, 处理时间 (T_h) 缩短。球孢白僵菌处理柑橘始叶螨及捕食螨携带球孢白僵菌+球孢白僵菌处理柑橘始叶螨时, 捕食螨对猎物的综合控制能力 (a'/T_h) 下降, 但仅捕食螨携带球孢白僵菌时, 巴氏新小绥螨对猎物的综合控制能力 (a'/T_h) 小幅度上升(表 1)。

表 1 短时高温条件下巴氏新小绥螨对柑橘始叶螨若螨 Holling-II 型功能反应模型及其参数
Table 1 The Holling-II functional response parameters of females of *Neoseiulus barkeri* to nymphs of *Eotetranychus kankitus* under short-term high temperature conditions

处理 Treatments	温度 (°C) Temperatures (°C)	功能反应方程 Functional response equation	瞬时攻击率 a' Attacking rate	捕食效能 a'/T_h Predation capacity	处理时间 T_h Handling time	相关系数 R^2 Correlation coefficient
捕食螨 Predatory mite	25	$N_a = 0.555 1N_0/(1+0.066 4N_0)$	0.555 1	8.359 9	0.066 4	0.998 5
	35	$N_a = 0.410 2N_0/(1+0.047 3N_0)$	0.410 2	8.672 3	0.047 3	0.988 0
叶螨 Spider mite	25	$N_a = 0.514 9N_0/(1+0.071 4N_0)$	0.514 9	7.211 4	0.071 4	0.999 4
	35	$N_a = 0.373 4N_0/(1+0.056 4N_0)$	0.373 4	6.620 5	0.056 4	0.993 8
捕食螨+叶螨 Predatory mite and spider mite	25	$N_a = 0.537 2N_0/(1+0.088 1N_0)$	0.537 2	6.097 6	0.088 1	0.998 8
	35	$N_a = 0.337 9N_0/(1+0.078 5N_0)$	0.337 9	4.304 4	0.078 5	0.994 4

2.3 短时高温胁迫对携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨的发育及繁殖的影响

发育和繁殖期间每日 35 °C 短时高温胁迫 4 h 下, 携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨发育加快, 卵、幼螨及前若螨的发育历期均缩短, 分别为 2.032、0.858 和 1.224 d, 均显著低于 25 °C 常温处理下携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨各龄期的发育历期(卵: $t = 8.967, P < 0.001$; 幼螨: $t = 6.797, P < 0.001$; 前若螨: $t = 8.751, P < 0.001$, 图 3)。从繁殖方面看, 携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨雌成螨的产卵前期延长, 总产卵量和平均寿命与对照组相比均显著降低(产卵前期: $t = -8.046, P < 0.001$; 总产卵量: $t = 2.858, P = 0.006$; 平均寿命: $t = 2.654, P = 0.010$, 图 4)。

3 结论与讨论

温度是干扰天敌生防效能的重要因素, 高温会在一定程度上影响天敌适合度。本研究对短时高温胁迫下携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨的生物学特性进行了评价, 测定短时高温胁迫下巴氏新小绥螨携带球孢白僵菌孢子的残留量、携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨对柑橘始叶螨的捕

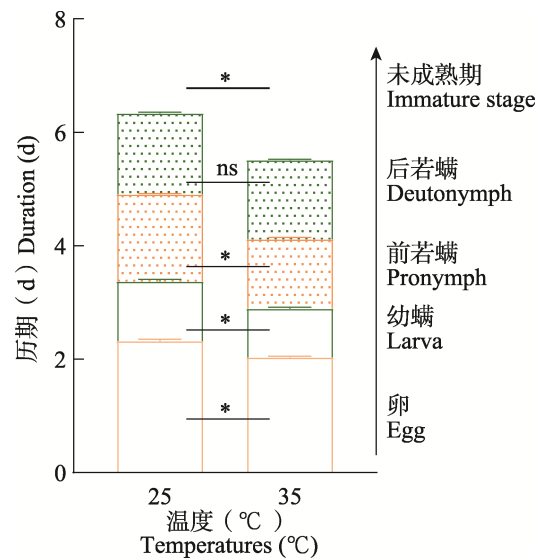


图 3 短时高温胁迫下携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨的发育情况

Fig. 3 Effects of short-term heat temperature stress on the development time of *Neoseiulus barkeri* carrying *Beauveria bassiana*

*表示差异显著(独立样本 t 检验, $P < 0.05$), ns 表示无显著性差异(独立样本 t 检验, $P > 0.05$)。

图 4 同。

* indicates significant difference (t -test, $P < 0.05$), ns indicates no significant difference (t -test, $P > 0.05$).

The same for Fig. 4.

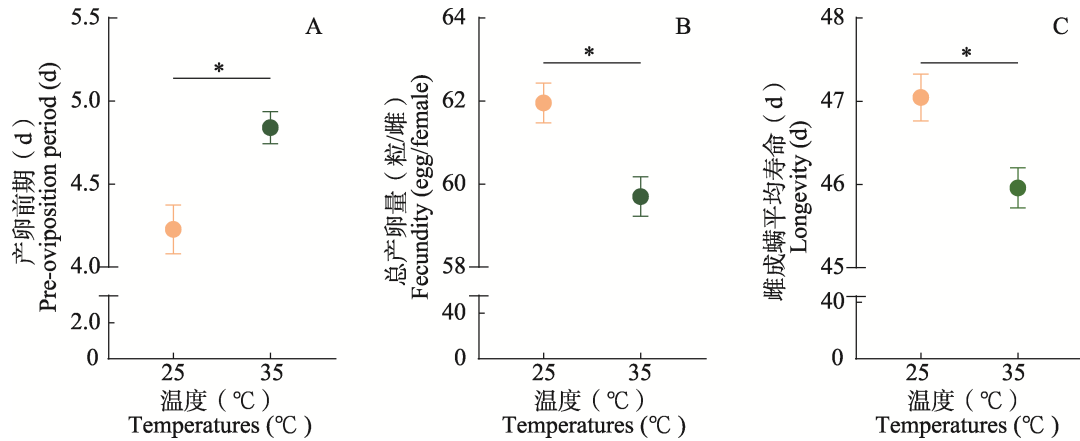


图 4 短时高温胁迫下携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨雌成螨的产卵前期 (A)、产卵量 (B) 和寿命 (C)

Fig. 4 Effects of short-term high temperature stress on the pre-oviposition periods (A), fecundity (B) and longevity (C) of female *Neoseiulus barkeri* carrying *Beauveria bassiana*

食功能反应及携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨的发育及繁殖情况。结果表明,巴氏新小绥螨携带孢子的残留量随时间延长而降低,但短时高温胁迫对巴氏新小绥螨携带孢子的残留量不存在显著影响;35 °C高温胁迫处理时,携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨对柑橘始叶螨的捕食量与25 °C常温处理时不存在显著差异;但相较于25 °C常温处理,高温胁迫下携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨发育加快、产卵前期延长、产卵量和寿命降低。

高温胁迫下,巴氏新小绥螨仍可携带大量球孢白僵菌 Bb025 菌株的孢子(2 h, 3.45×10^5),高于吴圣勇等(2014)报道的巴氏新小绥螨携带的球孢白僵菌 SZ-26 菌株的孢子量(2 h, 4.12×10^4)。虽然随时间延长,巴氏新小绥螨携带的孢子数量减少,但在6 h时巴氏新小绥螨的孢子携带量仍为 10^5 数量级。试验过程中发现球孢白僵菌悬浮液处理后,巴氏新小绥螨表现出“自我清理”的行为,通过“摩擦”和“抖动”将孢子从体表清理出去。这一行为与Wu等(2018)研究结果一致,球孢白僵菌处理后的智利小植绥螨 *Phytoseiulus persimilis* (Athias-Henriot)同样表现出清理体壁的行为。因此,球孢白僵菌的孢子可在巴氏新小绥螨爬行扩散的过程中通过其“自我清理”的行为被动传播出去,粘附到寄主植物叶片或猎物,进而提升对猎物的控制能力(吴圣勇等,2014; Lin *et al.*, 2019)。

捕食功能反应是生物防治中的重要内容,是

衡量捕食性天敌对猎物防控能力的重要手段。本研究探究了高温35 °C胁迫下携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨雌成螨对柑橘始叶螨的捕食功能反应。研究发现巴氏新小绥螨在遭受35 °C短时高温胁迫时对柑橘始叶螨若螨的捕食功能仍符合Holling-II模型,其捕食量虽有轻微降低,但与常温处理无显著差异,该结果与Jafari等(2012)报道的随温度升高,巴氏新小绥螨取食二斑叶螨的捕食功能反应类型均为Holling-II,且25 °C下捕食量与35 °C不存在显著差异的结果一致。此外,试验结果表明高温胁迫下,仅有携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨对叶螨的捕食效能小幅度提升,但其取食白僵菌处理过的叶螨,捕食螨的捕食效能均有所降低。分析后发现,球孢白僵菌处理后,捕食螨对叶螨的瞬时攻击率虽有所降低,但对猎物的处理时间同样降低,且巴氏新小绥螨对白僵菌处理的叶螨处理时间降低幅度小,进而出现了白僵菌处理的巴氏新小绥螨捕食效能小幅上升的情况。白僵菌处理猎物后出现捕食潜能降低的情况可能是因为球孢白僵菌处理了叶螨后立即用于试验,影响了捕食螨对猎物的选择和摄食行为(Seiedy *et al.*, 2012)。

高温会提升天敌的运动扩散能力(Coombs and Bale, 2013),同时呼吸代谢加快(Guzmán *et al.*, 2016),这些反应可帮助天敌抵御不良环境条件,但这些行为表现是以牺牲天敌潜在的存活、发育及繁殖能力为代价,这种影响天敌的生

活史过程特别是通过延迟产卵开始和减少繁殖产量, 最终会给天敌的种群增长及延续带来一定的负面影响 (Silbermann and Tatar, 2000)。本研究中, 携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨在短时高温胁迫下能够正常发育, 但与对照相比发育加快, 这与在 15-35 °C 仅随温度升高巴氏新小绥螨发育历期缩短的结果一致 (Jafari *et al.*, 2012), 与单一白僵菌处理下巴氏新小绥螨发育历期延长的结果相反 (Wu *et al.*, 2015)。携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨在高温胁迫下同样能正常交配及繁殖, 但其产卵前期延长, 总产卵量降低, 寿命缩短, 这一结果与单一热胁迫处理下巴氏新小绥螨雌成螨产卵前期明显延长, 繁殖力和寿命明显降低的繁殖情况表现一致 (Xia *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2016)。

本研究通过评价短时高温胁迫下携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨的生物学特性, 研究明确短时高温胁迫下巴氏新小绥螨仍能携带一定数量的球孢白僵菌孢子, 在高温胁迫下携带球孢白僵菌的巴氏新小绥螨仍对柑橘始叶螨具有较高的捕食能力, 但高温对捕食螨的繁殖和寿命产生了不利的影响。系统高温筛选获得的高温品系巴氏新小绥螨已被证明对高温的敏感性降低, 其总产卵量、平均寿命受到高温胁迫的影响较小 (Zhang *et al.*, 2018), 后续可应用高温品系巴氏新小绥螨以弥补高温胁迫对捕食螨种群所产生的负面影响。

参考文献 (References)

- Bugeme DM, Knapp M, Boga HI, Wanjoya AK, Maniania NK, 2009. Influence of temperature on virulence of fungal isolates of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae*. *Mycopathologia*, 167(4): 221–227.
- Castillo-Ramírez O, Guzmán-Franco AW, Santillán-Galicia MT, Tamayo-Mejía F, 2020. Interaction between predatory mites (Acari: Phytoseiidae) and entomopathogenic fungi in *Tetranychus urticae* populations. *BioControl*, 65(4): 433–445.
- Coombs MR, Bale JS, 2013. Comparison of thermal activity thresholds of the spider mite predators *Phytoseiulus macropilis* and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). *Experimental and Applied Acarology*, 59(4): 435–445.
- Guzmán C, Aguilar-Fenollosa E, Sahún RM, Boyero JR, Vela JM, Wong E, Jaques JA, Montserrat M, 2016. Temperature-specific competition in predatory mites: Implications for biological pest control in a changing climate. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 216: 89–97.
- Hekmat Z, Golpayegani AZ, Saboori A, Yazdi S, 2017. Innate and acquired response of *Neoseiulus barkeri* and *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae) to spider mite induced plant volatiles. *Persian Journal of Acarology*, 6(2): 113–123.
- Hu JH, Wang XL, Zhang YH, Yao TS, Liu HQ, Li HY, Ran C, 2016. Behavioral response of *Neoseiulus barkeri* to carrizo citrange leaves damaged by *Panonychus citri* and sucking insects. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 53(1): 30–39. [胡军华, 王雪莲, 张耀海, 姚廷山, 刘浩强, 李鸿筠, 冉春, 2016. 巴氏新小绥螨对柑桔全爪螨处理的枳橙叶片挥发物的行为反应. *应用昆虫学报*, 53(1): 30–39.]
- Jafari S, Fathipour Y, Faraji F, 2012. Temperature-dependent development of *Neoseiulus barkeri* (Acari: Phytoseiidae) on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) at seven constant temperatures. *Insect Science*, 19(2): 220–228.
- Jiang GF, Chen F, Li XJ, Yue JS, Ran C, Liu H, 2012. Advances in *Neoseiulus barkeri*. *South China Fruits*, 41(2): 36–40. [江高飞, 陈飞, 李晓娇, 岳建苏, 冉春, 刘怀, 2012. 巴氏新小绥螨研究进展. *中国南方果树*, 41(2): 36–40.]
- Kryukov VY, Tomilova OG, Yaroslavtseva ON, Wen TC, Kryukova NA, Polenogova OV, Tokarev YS, Glupov VV, 2018. Temperature adaptations of *Cordyceps militaris*, impact of host thermal biology and immunity on mycosis development. *Fungal Ecology*, 35: 98–107.
- Li YY, Liu MX, Zhou HW, Tian CB, Zhang GH, Liu YQ, Liu H, Wang JJ, 2017. Evaluation of *Neoseiulus barkeri* (Acari: Phytoseiidae) for control of *Eotetranychus kankitus* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 110(3): 903–914.
- Lin GY, Guertin C, Di Paolo SA, Todorova S, Brodeur J, 2019. Phytoseiid predatory mites can disperse entomopathogenic fungi to prey patches. *Scientific Reports*, 9(1): 19435.
- Mascarin GM, Jaronski ST, 2016. The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(11): 177.
- Migeon A, Nougier E, Dorkeld F, 2010. Spider mites web: A comprehensive database for the Tetranychidae//Sabelis MW, Bruins J (eds.). *Trends in Acarology*. Dordrecht: Springer Netherlands. 557–560.
- Seiedy M, Saboori A, Allahyari H, Talaci-Hassanloui R, Tork M, 2012. Functional response of *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae) on untreated and *Beauveria bassiana* - treated

- adults of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Insect Behavior*, 25(6): 543–553.
- Shi WB, Feng MG, 2006. Field efficacy of application of *Beauveria bassiana* formulation and low rate pyridaben for sustainable control of citrus red mite *Panonychus citri* (Acari: Tetranychidae) in orchards. *Biological Control*, 39: 210–217.
- Silbermann R, Tatar M, 2000. Reproductive costs of heat shock protein in transgenic *Drosophila melanogaster*. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 54(6): 2038–2045.
- Song ZW, Zheng Y, Zhang BX, Li DS, 2022. Population dynamics of predatory mites and citrus red mites on three different citrus varieties. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 59(6): 1436–1446. [宋子伟, 郑苑, 张宝鑫, 李敦松, 2022. 三种柑橘品种上捕食螨和柑橘全爪螨种群发生动态调查. 应用昆虫学报, 59(6): 1436–1446.]
- Trandem N, Berdinesen R, Pell JK, Klingen I, 2016. Interactions between natural enemies: Effect of a predatory mite on transmission of the fungus *Neozygites floridana* in two-spotted spider mite populations. *Journal of Invertebrate Pathology*, 134: 35–37.
- Ullah MS, Kobayashi Y, Gotoh T, 2022. Development and reproductive capacity of the miyake spider mite *Eotetranychus kankitus* (Acari: Tetranychidae) at different temperatures. *Insects*, 13(10): 910.
- Wang XQ, Ran L, Duan XF, 2014. Study on novel tea plant pest mite, *Eotetranychus kankitus* (Ehara). *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 27(6): 2423–2427.
- Wu SY, Gao YL, Xu XN, Wang DJ, Li J, Wang HH, Wang ED, Lei ZR, 2015. Feeding on *Beauveria bassiana*-treated *Frankliniella occidentalis* causes negative effects on the predatory mite *Neoseiulus barkeri*. *Scientific Reports*, 5(1): 12033.
- Wu SY, Gao YL, Zhang YP, Wang ED, Xu XN, Lei ZR, 2014. An entomopathogenic strain of *Beauveria bassiana* against *Frankliniella occidentalis* with no detrimental effect on the predatory mite *Neoseiulus barkeri*: Evidence from laboratory bioassay and scanning electron microscopic observation. *PLoS ONE*, 9(1): e84732.
- Wu SY, He Z, Wang ED, Xu XN, Lei ZR, 2017. Application of *Beauveria bassiana* and *Neoseiulus barkeri* for improved control of *Frankliniella occidentalis* in greenhouse cucumber. *Crop Protection*, 96: 83–87.
- Wu SY, Wang PX, Zhang ZK, Xu XN, Lei ZR, 2014. Capability of the predatory mite in carrying conidia of *Beauveria bassiana* and conidia vitality and virulence to *Frankliniella occidentalis*. *Scientia Agricultura Sinica*, 47(20): 3999–4006. [吴圣勇, 王鹏新, 张治科, 徐学农, 雷仲仁, 2014. 捕食螨携带白僵菌孢子的能力及所携孢子的活性和毒力. 中国农业科学, 47(20): 3999–4006.]
- Wu SY, Xie HC, Li MY, Xu XN, Lei ZR, 2016. Highly virulent *Beauveria bassiana* strains against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*, show no pathogenicity against five phytoseiid mite species. *Experimental and Applied Acarology*, 70(4): 421–435.
- Wu SY, Xing ZL, Sun WN, Xu XN, Meng RX, Lei ZR, 2018. Effects of *Beauveria bassiana* on predation and behavior of the predatory mite *Phytoseiulus persimilis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 153: 51–56.
- Xia B, Zou ZW, Li PX, Lin P, 2012. Effect of temperature on development and reproduction of *Neoseiulus barkeri* (Acari: Phytoseiidae) fed on *Aleuroglyphus ovatus*. *Experimental and Applied Acarology*, 56(1): 33–41.
- Yang Y, 2019. Effects of short-term high temperature stress on the biological characteristics of *Beauveria bassiana* and *Neoseiulus barkeri* (Hughes) (Acari: Phytoseiidae). Master dissertation. Chongqing: Southwest university. [杨瑒, 2019. 短时高温胁迫对球孢白僵菌和巴氏新小绥螨生物学特性的影响研究. 硕士学位论文. 重庆: 西南大学.]
- Zhang GH, 2017. Screening and high temperature adaptive mechanism in a heat acclimated strain of *Neoseiulus barkeri* (Hughes). Doctor dissertation. Chongqing: Southwest University. [张国豪, 2017. 巴氏新小绥螨高温品系筛选及其适应性机制研究. 博士学位论文. 重庆: 西南大学.]
- Zhang GH, Li YY, Tian CB, Xu YJ, Zhou HW, Huang J, Wang JJ, Liu H, 2018. Intraspecific variations on thermal susceptibility in the predatory mite *Neoseiulus barkeri* Hughes (Acari: Phytoseiidae): Responding to long-term heat acclimations and frequent heat hardenings. *Biological Control*, 121: 208–215.
- Zhang GH, Li YY, Zhang KJ, Wang JJ, Liu YQ, Liu H, 2016. Effects of heat stress on copulation, fecundity and longevity in newly-emerged adults of the predatory mite, *Neoseiulus barkeri* (Acari: Phytoseiidae). *Systematic and Applied Acarology*, 21(3): 295–306.
- Zhang YX, Sun L, Lin GY, Lin JZ, Chen X, Ji J, Zhang ZQ, Saito Y, 2015. A novel use of predatory mites for dissemination of fungal pathogen for insect biocontrol: The case of *Amblyseius swirskii* and *Neoseiulus cucumeris* (Phytoseiidae) as vectors of *Beauveria bassiana* against *Diaphorina citri* (Psyllidae). *Systematic and Applied Acarology*, 20(2): 177–187.
- Zhou L, Yue BS, Zou FD, 1999. Life table studies of *Eotetranychus kankitus* (Acari: Tetranychidae) at different temperatures. *Systematic and Applied Acarology*, 4: 69–73.