

韭菜迟眼蕈蚊规模化饲养技术*

陈浩^{1**} 冯连杰² 周仙红¹ 曹雪¹ 高欢欢¹
翟一凡¹ 于毅^{1***}

(1. 山东省农业科学院植物保护研究所/山东省植物病毒学重点实验室, 济南 250100;

2. 济南市蔬菜技术推广服务中心, 济南 250100)

摘要 【目的】韭菜迟眼蕈蚊 *Bradysia odoriphaga* Yang et Zhang 是为害韭菜等蔬菜的重要害虫, 规模化饲养提供大量虫源是其他研究工作得以开展的基础。本研究旨在解决目前韭菜迟眼蕈蚊饲养规模小、材料和劳动力成本高等问题。【方法】本实验室利用土豆、花生、大豆为食物进行了规模化饲养韭菜迟眼蕈蚊的研究, 测定了取食上述饲料的韭菜迟眼蕈蚊的成活率、繁殖力、羽化节律和性比。【结果】取食土豆、花生、大豆等食物的韭菜迟眼蕈蚊的成活率和繁殖力与取食人工饲料和韭菜的无显著差异, 卵到成虫的发育历期为 20~23 d, 雌雄性比为 0.8 : 1~1.2 : 1。在规模化饲养过程中, 土豆、花生、大豆等饲料有发霉长菌现象, 经分子鉴定, 主要种类为雅致放射毛霉、巴克斯毛霉、黄曲霉和赭曲霉, 均为腐生菌, 不影响韭菜迟眼蕈蚊的存活和繁殖。【结论】该技术省工省时, 成本低, 特别适合实验室种群的维持和大量试虫的饲养。

关键词 韭菜迟眼蕈蚊, 规模化饲养, 低成本

New technique for mass rearing *Bradysia odoriphaga*

CHEN Hao^{1**} FENG Lian-Jie² ZHOU Xian-Hong¹ CAO Xue¹
GAO Huan-Huan¹ ZHAI Yi-Fan¹ YU Yi^{1***}

(1. Key Laboratory for Plant Virology of Shandong, Institute of Plant Protection, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China; 2. Jinan Vegetable Technology Extension Service Center, Jinan 250100, China)

Abstract 【Objectives】*Bradysia odoriphaga* Yang et Zhang is an important pest of Chinese chives. Large scale rearing of this pest is useful for developing methods to control it. Our study addressed the high material and labor costs, and relatively small number of animals produced, by the present rearing technique. 【Methods】We experimentally reared *B. odoriphaga* larvae on potatoes, peanuts and beans and compared the survival rate, fecundity, emergence rhythm and sex ratio of *B. odoriphaga* reared on this diet to those reared on Chinese chives and artificial diets. 【Results】There was no significant difference between the survival rate and fecundity of *B. odoriphaga* larvae reared on the new diet and those reared on Chinese chives and artificial diets. The developmental period from egg to adult of larvae reared on the new diet was 20-23 days and the sex ratio was 0.8 : 1-1.2 : 1. Although the new diet became easily infected with fungi, molecular identification revealed that the main fungal species were *Actinomucor elegans*, *Backusella circina*, *Aspergillus flavus* and *Aspergillus ochraceus*, all of which are saprophytic and did not affect the survival and breeding of *B. odoriphaga*. 【Conclusion】Our technique saved time, labor and materials, and is especially suitable for the maintenance of laboratory population and mass rearing.

Key words *Bradysia odoriphaga*, mass rearing, low cost

* 资助项目 Supported projects : 公益性行业 (农业) 科研专项经费 (201303027) ; 山东省农业科学院科技创新重点项目 (2014CX07)

**第一作者 First author, E-mail : cha.active@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail : robertyu@163.com

收稿日期 Received : 2015-06-30, 接受日期 Accepted : 2015-08-14

韭菜迟眼蕈蚊 *Bradysia odoriphaga* Yang et Zhang, 属双翅目 Diptera, 眼蕈蚊科 Sciaridae, 其幼虫俗名韭蛆 (杨集昆和张学敏, 1985), 是韭菜等蔬菜上的重要害虫 (冯慧琴和郑方强, 1987)。因其隐蔽为害, 防治较困难, 菜农往往乱用、滥用化学药剂, 甚至使用高毒或剧毒杀虫剂, 致使韭菜农药残留超标, 对食品安全造成极大隐患。

解决试虫供应问题是开展其他研究的基础 (Cohen, 2003)。为防治此害虫所开展的各方面科学研究都需要大量标准化的试虫。目前普遍采用的韭菜迟眼蕈蚊饲养方法或者是模拟自然条件, 用盆栽韭菜饲养 (党志红等, 2000), 或者利用培养皿等小器具作为饲养容器, 离体新鲜韭菜为食物的饲养方式 (慕卫等, 2003; 许静杨等, 2014)。这些方法一年四季需要韭菜, 且要耗费大量人工和时间每天添加或更换食物, 极大限制了大量试虫的饲养。虽然作者实验室目前可以用人工饲料替代韭菜, 降低了成本, 延长了饲料的保存时间, 有着良好的饲养效果, 但仍费工费时。在实验室周年维持大量虫源的情况下, 寻找成本更低, 操作更简便的规模化饲养方法显得尤为重要。鉴于此, 本文就成本更低廉, 操作更简便且可规模化饲养韭菜迟眼蕈蚊的技术进行了研究。

1 材料与方法

1.1 试虫

供试虫源为山东省农业科学院植物保护研究所长期使用人工饲料 (配方参见专利 ZL200810238714.0) 饲养的种群。养虫室中温度为 20~23℃, 相对湿度为 30~60%, 光周期为 10L:14D。

1.2 饲料处理方法

供试材料土豆、花生和大豆均为超市统一购置, 韭菜为实验室田间种植 (无农药处理)。将花生、大豆、土豆切成小块 (此前花生和大豆用自来水浸泡 24 h, 土豆去皮), 在沸水中浸泡 3 min 后取出, 用滤纸吸干表面水分, 冷却至室温后备用。韭菜剪成 1 cm 的小段备用。

1.3 不同饲料饲养的韭菜迟眼蕈蚊成活率和繁殖力

在塑料碗 (直径=10 cm, 高=8 cm) 中放入 570 g 过 10 目筛的沙子, 加入 30 mL 水混匀。塑料碗盖中央用 4 号昆虫针扎 50 个透气孔。不同处理选用的食物分别为土豆、花生、大豆、人工饲料、韭菜, 每处理放入韭蛆初孵化幼虫 (4 d 前的卵) 100 头, 重复 4 次。每天定时检查, 适时补充食物。记录羽化的成虫数量。取不同食物饲养的初羽化成虫分别 1:1 配对, 接入培养皿中 (直径=3.5 cm, 高=1 cm, 底部有 2 mm 厚的 2.5% 的琼脂, 上覆盖滤纸片), 加入一段长约 1 cm 的韭菜茎段, 盖上培养皿盖。记录产卵量。每处理成虫数量大于 10 对, 重复 4 次。

1.4 规模化饲养的韭菜迟眼蕈蚊羽化节律及性比

将 1 500 g 沙子 (70℃下烘 24 h, 室温下冷却 12 h) 铺在塑料盒 (28 cm×21 cm×17.5 cm) 底部, 加水 150 mL, 搅拌混匀。各处理的饲料分别为 150 g 花生、150 g 土豆、75 g 花生+75 g 土豆, 接卵量 (24 h 之内的卵) 约为 0.017 g (0.001 g 约 600 粒卵)。用保鲜膜封住塑料盒口, 保鲜膜中央剪出直径约 15 cm 的圆孔, 贴上大滤纸 (直径=18 cm)。塑料盒放入养虫室内, 每天定时观察并记录羽化出虫时间及雌雄虫数量。重复 3 次。

1.5 饲料上的菌落鉴定

挑取 1.4 中规模化饲养过程中饲料上产生的不同形态菌落进行培养, 挑取单孢接到 PDA 培养基上, 在 25℃下培养。用 CTAB 法从分离纯化物中提取病原菌菌丝 DNA, 利用 ITS1/4 引物 (序列为 ITS1-TCCGTAGGTGAACCTGCGG; ITS4-TCCTCCGCTTATTGATATGC) 对病原真菌 rDNA-ITS 序列进行 PCR 扩增。50 μL 反应体系: DNA 回收产物 1 μL, 引物各 1 μL, EasyTaq PCR SuperMix (北京全式金生物技术有限公司) 25 μL, 加 ddH₂O 补足 50 μL。PCR 条件为: 94℃ 5 min, 94℃ 30 s, 55℃ 30 s, 72℃ 2 min, 循环 30 次, 72℃ 10 min, 4℃终止。PCR 扩增产物送山东省农业科学院测序部测序。用 NCBI 网站上的

BLAST 在线工具 (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 进行序列比对和分析。

1.6 数据处理

本文的试验数据均采用 SPSS16.0 进行单因素方差分析, 多重比较用 LSD 法, 显著性水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 不同饲料饲养的韭菜迟眼蕈蚊成活率和繁殖率

饲喂不同食物, 各处理间韭菜迟眼蕈蚊从初孵幼虫到成功羽化为成虫的数量无显著差异 (图 1, $F_{4,15} = 0.620$, $P = 0.655$), 平均成活率为 6.0%~15.5%。

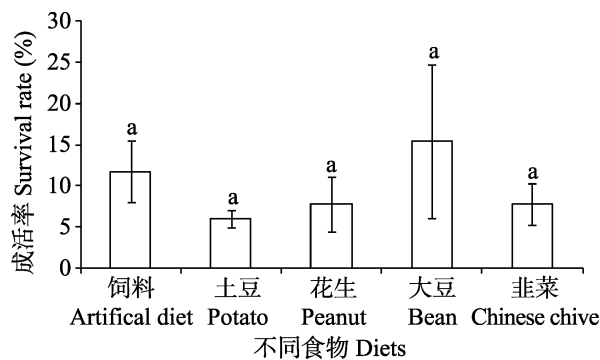


图 1 不同食物饲养韭菜迟眼蕈蚊的成活率

Fig. 1 Survival rate of *Bradysia odoriphaga* reared by different diets

柱上的字母不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。下图同。
Histograms with different letters indicate significantly different by ANOVA analysis ($P < 0.05$). The same below.

不同食物饲养对羽化后的成虫产卵量也无显著影响 (图 2, $F_{4,15} = 0.414$, $P = 0.745$), 各处理平均单雌产卵量为 63.0~113.6 粒。

2.2 规模化饲养的韭菜迟眼蕈蚊羽化节律及性比

不同食物饲养的韭菜迟眼蕈蚊雌雄成虫羽化节律相似, 整个成虫羽化期可持续 2 周。土豆和花生+土豆饲养的成虫羽化高峰期集中在第 20~23 d, 单独花生饲养的则集中在第 21~25 d。雄虫最早 13 d 即可羽化, 雌虫则推迟 1~2 d。雄虫的羽化最高峰出现在接虫卵后第 21 d, 比雌虫

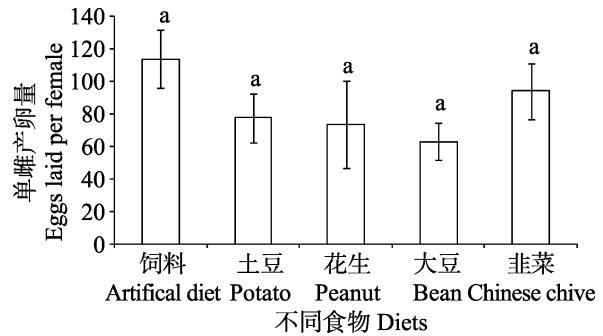


图 2 不同食物饲养对韭菜迟眼蕈蚊单雌产卵量的影响

Fig. 2 Effect of different diets on fecundity of *Bradysia odoriphaga* female

早 1 d (图 3)。

不同食物饲养的各处理间成虫性比无显著差异 (图 4, $F_{2,7} = 0.676$, $P = 0.539$), 雌虫与雄虫的比例约为 0.8~1.2。

2.3 饲料上的菌落鉴定

在规模化饲养的过程中, 从韭蛆的食物上共提取了 8 个形态有差异的菌落样本进行鉴定后, 共有 4 种真菌, 分别是雅致放射毛霉 *Actinomucor elegans*, 巴克斯毛霉 *Backusella circina*, 黄曲霉 *Aspergillus flavus* 和赭曲霉 *Aspergillus ochraceus*。菌落形态如图 5 所示。

3 讨论

在 20~25°C 的条件下, 梅增霞等 (2004) 饲养的韭菜迟眼蕈蚊从卵到成虫的成活率为 65.9%~69.6%, 单雌产卵量为 140.9~159.9 粒。汪玉新 (2007) 饲养的单雌产卵量约为 160 粒。这些指标均好于本文韭菜饲养的效果, 究其原因: 我们后期的研究中发现实验室种群有感染微孢子虫的现象, 导致成活率和产卵量下降。

韭菜迟眼蕈蚊可为害百合科、十字花科、葫芦科、菊科、藜科、伞形花科、兰科等的 30 多种植物 (冯慧琴和郑方强, 1987; 韩群鑫等, 2011), 属于多食性害虫。在生产中, 并未见有韭菜迟眼蕈蚊为害大豆、土豆、花生等作物的报道。在本研究中, 利用这些材料饲养的韭菜迟眼蕈蚊可顺利完成其生活史, 这表明韭菜迟眼蕈蚊的食性具有相当大的可塑性, 其可利用的食物可

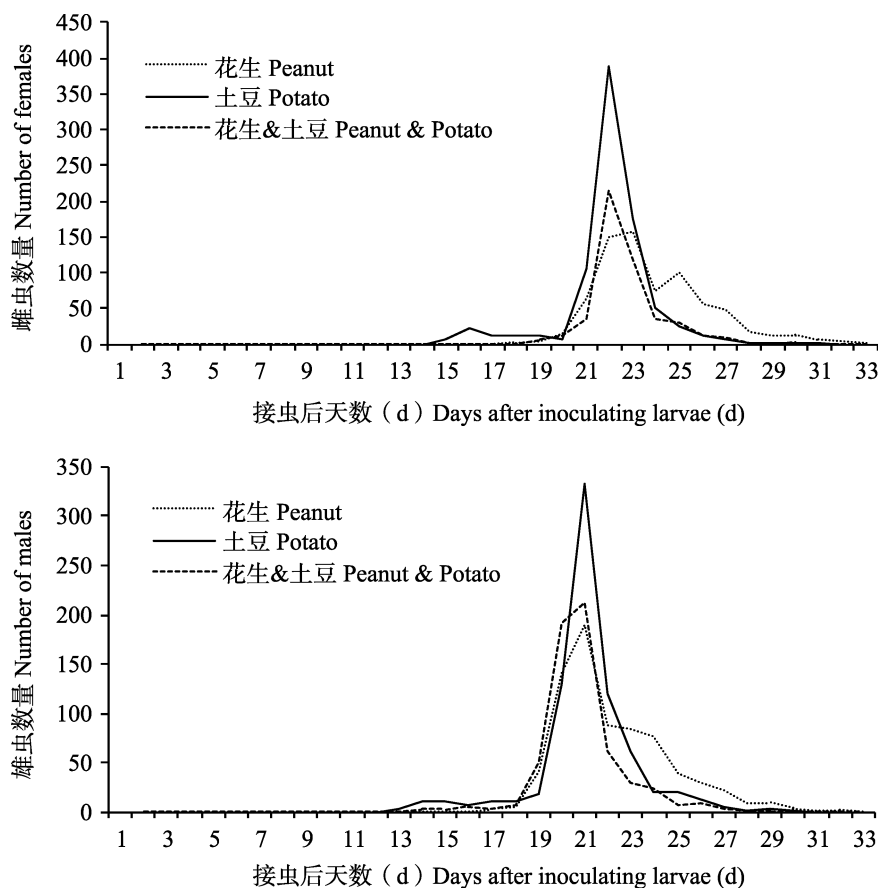


图 3 成虫羽化节律

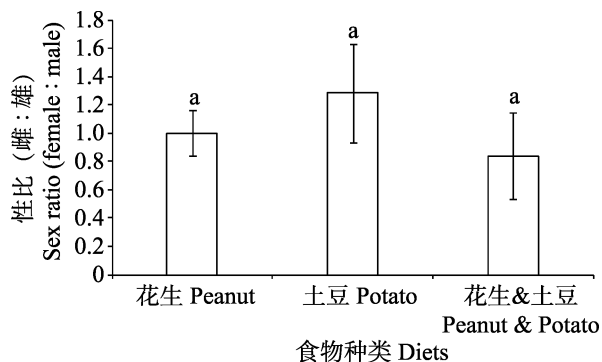
Fig. 3 Emergence rhythm of *Bradysia odoriphaga* adults

图 4 规模化饲养的韭菜迟眼蕈蚊性比

Fig. 4 Effect of different diets on sex ratio of *Bradysia odoriphaga*

能要远超已报道的寄主范围。本研究的结果表明以大豆、土豆、花生饲喂韭菜迟眼蕈蚊,其成活率、产卵量与韭菜和人工饲料饲养的相比并无显著差异。与韭菜和人工饲料相比,土豆、花生、大豆均有耐储藏、低成本的特点。通常情况下,

土豆的市场价格最低,因此建议使用土豆作为韭菜迟眼蕈蚊大规模饲养的饲料。

韭菜迟眼蕈蚊饲养过程中最关键的是保持好湿度,湿度过大或过小都会导致试虫死亡(冯慧琴和郑方强, 1987; 慕卫等, 2003)。在传统的方法中,使用培养皿或扎孔塑料盒等为饲养器具,一方面,需要在饲养器皿中加琼脂或湿滤纸保湿;另一方面,又要及时清除饲养器皿壁和盖上因蒸发和冷凝而产生的水滴,以免溺死试虫。本试验采用的塑料盒底部的沙水比例能维持良好的保湿效果,顶部的滤纸则保证良好的透气效果,不会导致塑料盒内壁凝结水珠而溺死试虫。投入足量食物后,韭菜迟眼蕈蚊幼虫可在塑料盒内自由取食生长,不必每天观察照料,省工省时。每塑料盒可饲养韭菜迟眼蕈蚊幼虫 10 000 头以上。成虫羽化后可以在其中自由交配繁殖。下一代孵化后也可继续取食成长。按 1.4 的食物用量,

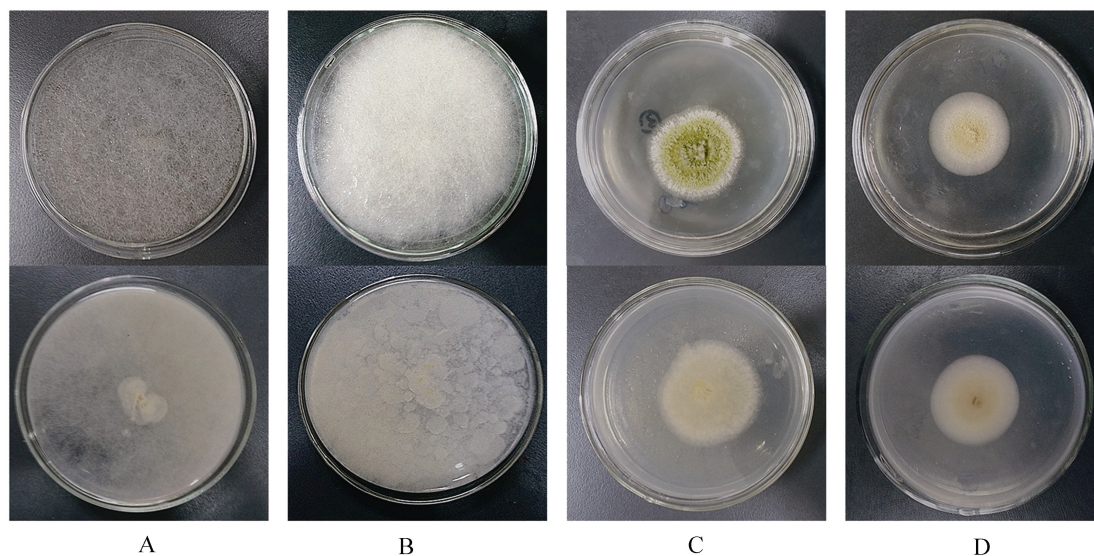


图 5 食物上的真菌

Fig. 5 Fungi found on diets

上图为正面观，下图为反面观。The upper photo is front view, and the lower photo is back view.

A. 雅致放射毛霉 *Actinomucor elegans* ; B. 巴克斯毛霉 *Backusella circina* ; C. 黄曲霉 *Aspergillus flavus* ; D. 赭曲霉 *Aspergillus ochraceus*.

可满足两代以上的韭菜迟眼蕈蚊完成生活史。

大规模饲养过程中，一次性投入较多的大豆、土豆或花生，2 d 后食物上就会出现菌落，鉴定表明优势菌主要为 4 种真菌，这些真菌都是腐生菌。它们在食物表面生长，并不影响韭蛆在食物下面取食。韭蛆本身为半腐生性害虫，即使寄主腐烂成泥状，仍能正常生活（冯慧琴和郑方强，1987）。本文的规模化饲养技术，韭菜迟眼蕈蚊的发育历期为 13~33 d，羽化高峰期在 20~23 d，发育历期稍短于梅增霞等（2004）的方法；性比为 0.8~1.2，与汪玉新（2007），杨景娟等（2006）的研究结果接近。因此，规模化饲养过程中的真菌污染不会对韭蛆的存活和繁殖产生影响。

本实验室采用此饲养技术周年维持大量韭菜迟眼蕈蚊已有 20 多代，尚未发现有不良的影响。利用此技术规模化饲养韭菜迟眼蕈蚊省工省时、成本低，特别适合实验室种群的维持和大量试虫的饲养需求。

参考文献 (References)

Mu W, Liu F, Jia ZM, He MH, Xiang GH, 2003. A simple and

convenient rearing technique for *Bradysia odoriphaga*. *Entomological Journal of East China*, 12(2): 87–89. [慕卫, 刘峰, 贾忠明, 何茂华, 相冠锋, 2003. 韭菜迟眼蕈蚊简便人工饲养技术. 华东昆虫学报, 12(2): 87–89.]

Yang JK, Zhang XM, 1985. Notes on the fragrant onion gnats with descriptions of two new species of *Bradysia* (Sciaridae: Diptera). *Acta Agriculturae Universitatis Pekinensis*, 11(2): 153–157. [杨集昆, 张学敏, 1985. 韭菜蛆的鉴定迟眼蕈蚊属二新种（双翅目：眼蕈蚊科）。北京农业大学学报, 11(2): 153–157.]

Feng HQ, Zheng FQ, 1987. Studies on the occurrence and control of *Bradysia odoriphaga* Yang et Zhang. *Journal of Shandong Agricultural University*, 18(1): 71–80. [冯慧琴, 郑方强, 1987. 韭蛆发生规律及防治研究. 山东农业大学学报, 18(1): 71–80.]

Mei ZX, Wu QJ, Zhang YJ, Hua L, 2004. Life tables of the laboratory population of *Bradysia odoriphaga* Yang et Zhang (Diptera: Mycetophilidae) at different temperatures. *Acta Entomologica Sinica*, 47(2): 219–222. [梅增霞, 吴青君, 张友军, 花蕾, 2004. 韭菜迟眼蕈蚊在不同温度下的实验种群生命表. 昆虫学报, 47(2): 219–222.]

Dang ZH, Jia HM, Gao ZL, Pan WL, 2000. Laboratory rearing technique of *Bradysia odoriphaga*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 37(5): 308–309. [党志红, 贾海民, 高占林, 潘文亮, 2000. 韭菜迟眼蕈蚊的室内人工饲养技术. 昆虫知识, 37(5): 308–309.]

Xu JY, Gu XS, Xu WH, Bai YC, Chen JR, Hu X, 2014. A simple

- rearing method for *Bradysia odoriphaga*. *Shandong Agricultural Sciences*, 46(4): 100–101, 116. [许静杨, 谷希树, 徐维红, 白义川, 陈俊荣, 胡霞, 2014. 韭菜迟眼蕈蚊的简易人工饲养方法. *山东农业科学*, 46(4): 100–101, 116.]
- Cohen AC, 2003. *Insect Diets: Science and Technology*. Boca Raton: CRC Press. 1–2.
- Han QX, Jiang XN, Cheng DM, Liu GH, Zhou CZ, 2011. Damage identification and control of *Bradysia* on phalaenopsis. *Guangdong Agricultural Sciences*, (11): 26–27. [韩群鑫, 江秀娜, 程东美, 刘光华, 周翠钻, 2011. 迟眼蕈蚊对蝴蝶兰的危害识别与防治. *广东农业科学*, (11): 26–27.]
- Wang YX, 2007. Survival characteristics and reproductive characteristics of *Bradysia odoriphaga* Yang et Zhang. Master dissertation. Taian: Shandong Agricultural University. [汪玉新, 2007. 韭菜迟眼蕈蚊生存特性与生殖特性的研究. 硕士学位论文. 泰安: 山东农业大学.]
- Yang JJ, Meng QJ, Xu YY, Liu GL, Zheng FQ, 2006. Sex differentiation of *Bradysia odoriphaga* and the ecological and evolutionary significance. *Chinese Bulletin of Entomology*, 43(4): 470–473. [杨景娟, 孟庆俭, 许永玉, 刘桂林, 郑方强, 2006. 韭菜迟眼蕈蚊的性别分化及其生态与进化意义. *昆虫知识*, 43(4): 470–473.]