

农田昆虫类群组成与玉米大斑病发生联系研究*

冯立超^{1**} 耿凯¹ 张少庆² 周妍¹ 张玉凤¹
张爽¹ 赵丽娜¹ 陈殿元^{1***}

(1. 吉林农业科技学院, 吉林 132101; 2. 中国科学院东北地理与农业生态研究所分析测试中心, 长春 130102)

摘要 【目的】探讨农田内玉米大斑病 *Exserohilum turcicum* 发生与昆虫类群组成之间联系, 昆虫体壁对玉米大斑病病原物携带情况。【方法】结合病虫害野外调查、病原物室内培养分离、生理生化及分子生物学鉴定方法确定昆虫体壁携带玉米大斑病病原物。【结果】通过对农田内玉米大斑病发生时期的昆虫类群组成调查, 发现农田内的昆虫群落物由 9 目, 45 科, 60 种昆虫所组成, 包括双翅目、鞘翅目、鳞翅目、半翅目、膜翅目、蜉蝣目、脉翅目、直翅目及革翅目。其中, 双翅目为优势类群, 其次为鞘翅目和鳞翅目。通过室内对虫体壁病原物进行镜检、分离纯化及病原物 DNA 序列测定比对, 发现农田内昆虫体壁携带玉米大斑病病原物。鞘翅目 2 种昆虫独角蚁形甲 *Notoxus monoceros* 和双斑萤叶甲 *Monolepta hieroglyphica* 携菌率显著高于双翅目昆虫 ($P<0.05$), 但携菌昆虫种类少于双翅目。玉米大斑病爆发期农田内昆虫数量与玉米大斑病发病等级相关性分析结果表明, 昆虫种类随着玉米大斑病情加重而呈现正相关关系。【结论】农田内昆虫类群组成与玉米大斑病病原物存在一定关联, 昆虫体壁携带玉米大斑病病原物对玉米大斑病传播作用不明显。

关键词 玉米大斑病; 玉米发病率; 昆虫物种丰富度; 相关性

The relationship between the insect community and *Exserohilum turcicum* in corn fields

FENG Li-Chao^{1**} GENG Kai¹ ZHANG Shao-Qing² ZHOU Yan¹ ZHANG Yu-Feng¹
ZHANG Shuang¹ ZHAO Li-Na¹ CHEN Dian-Yuan^{1***}

(1. Department of Plant Protection, Jilin Agricultural Science and Technology University, Jilin 132101, China; 2. Testing and Analysis Center, Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130102, China)

Abstract [Objectives] To explore the relationship between the occurrence of northern corn leaf blight and insect community composition in farmland, and identify insect vectors of this pathogen. [Methods] Field investigation, pathogen separation and purification, physiological identification and biochemistry and molecular biology, were used to identify insects carrying *Exserohilum turcicum*. [Results] Sixty insect species, from forty-five families and nine orders (Diptera, Coleoptera, Lepidoptera, Hemiptera, Hymenoptera, Ephemeroptera, Neuroptera, Orthoptera and Dermaptera) were investigated during an outbreak of northern corn leaf blight (*Exserohilum turcicum*) in corn fields. The Diptera were the dominant order and the Coleoptera the second most abundant. Microscopy and DNA analysis revealed that the *E. turcicum* pathogen was present in insect species. We suspect that the two Coleoptera species (*Notoxus monoceros* and *Monolepta hieroglyphica*) carry more pathogen than the Diptera ($P<0.05$), however, the species richness of virus vectors was lower among the Coleoptera than among the Diptera. There was a correlation between insect species and the incidence *E. turcicum* in corn crops. [Conclusion] Transmission of *E. turcicum* by insects may play a small role in outbreaks of this disease.

Key words *Exserohilum turcicum*; maize incidence; insect species richness; correlation

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目 (41430857); 吉林省教育厅高校创新团队——作物遗传育种团队 (115012017005); 吉林市科技创新发展计划项目 (20190105185); 吉林省优势特色学科建设项目——作物学; 吉林省教育厅作物遗传改良与种质创新工程研究中心

**第一作者 First author, E-mail: fenglichao@neigae.ac.cn

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: jlcly@sina.com

收稿日期 Received: 2019-06-01; 接受日期 Accepted: 2020-02-07

吉林位置处于世界著名的“玉米黄金带”上,自 20 世纪 50 年代开始,随着社会经济发展的需求,吉林开始大范围种植玉米(张彬和郭庆海,2006),致使玉米田内病原物的积累越来越多,其中大斑病为常见且危害较为严重的流行性病害,为玉米生产造成了严重的损失。玉米大斑病 *Exserohilum turcicum* 是大斑病凸脐蠕孢菌引起的真菌性病害,主要侵染叶片,形成病斑,该病在全世界范围内皆有发生,主要靠气流和雨水飞溅传播,严重时可造成大量减产(高卫东和戴法超,1993)。然而,在自然界中大多数的植物病原微生物依靠昆虫传播,其中包括病毒病和真菌性病害,用于传播的昆虫介体包括半翅目、鞘翅目、缨翅目、直翅目、革翅目、鳞翅目和双翅目(Leath and Newton, 1969; Kalb and Millar, 1986; 史晓斌等, 2012)。以植物病虫害为例,病原物传播主要途径为昆虫在取食过程中对植物形成的伤口经由口器携带并侵染传播(施艳等, 2013)。其中同翅亚目昆虫作为植物病毒病传播介体,对植物病毒病传播作用最为明显(Nault, 1997; Mitchell, 2004)。对于其他微生物如植物病原真菌,可通过虫体体躯其他部位如鳞毛、刚毛等作为病原物携带途径对病原物传播,其中鳞翅目蛾类成虫飞行过程中翅的煽动、幼虫排泄物对土壤内植物寄生性黑腐病、黄萎病原真菌传播,尤以保护地内最为严重(El-Hamalawi and Stanghellini, 2007; El-Hamalawi, 2010); 双翅目迟眼蕈蚊可携带瓜果腐霉菌并引起黄瓜腐霉病,并促进该病害在温室内传播(Jarvis et al., 2010)。昆虫对于植物病原微生物的携带,一方面可能是在活动过程中随机携带,或取食患病植物而携带;另一方面则由于部分昆虫具有对该类病原物取食习性进而携带传播(Kennedy, 1974; Goldberg, 1990; Stanghellini et al., 1990)。

玉米大斑病为多循环性病害,多年玉米连作促使玉米大斑病病原物已达到一定的积累(Newton et al., 2009),这可能会增大昆虫体壁携带病原物几率。本研究基于对玉米田内昆虫类群组成调查,并对昆虫进行体壁携带微生物进行

室内检验,采用 DNA 比对法对比玉米叶片病斑上病原物与虫体携带病原物,验证虫体对玉米大斑病病原物携带及携菌昆虫类群组成。旨在了解昆虫类群组成与大斑病发生作用联系,为今后农田病虫害防治提供相关参考资料。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

吉林市属温带大陆性季风气候,四季分明。夏季温热多雨,冬季寒冷干燥。受地形影响气温由南向北逐渐降低,7-8 月平均气温最高,一般在 21-28 °C。7-8 月份降水量在 190 mm 左右,雨日多。研究样地选取 20 年连作的玉米田,肥力中等的土壤(pH 6.3-6.5,土壤有机质百分含量 0.22%-0.24%,土壤含水量 14%-22%,土壤质地为砂壤)。调查样地玉米农田面积为 0.5 hm²。种植品种为先玉 335。

1.2 调查内容与方法

1.2.1 玉米大斑病田间调查 玉米大斑病发病程度的分级标准(GB/T 23391.1-2009),分为 1 级、3 级、5 级、7 级和 9 级,共 5 级。

1.2.2 田间昆虫种类调查 于玉米大斑病暴发时期,采用 transect 调查方法(Andersen et al., 2015; Lefebvre et al., 2018),在试验区共设置 5 个小区,每区内均匀设置 10 个调查样方,每个样方 1 m²,共 50 个,调查并记录昆虫种类及数量。采用扫网法收集样方内所有昆虫,并单独分装在消毒灭菌的离心管内,带回实验室内鉴定(刘向东, 2013)。

1.2.3 室内虫体携菌验证 采用 PDA 培养基接种验证与菌种基因鉴定技术相结合方法检测昆虫体壁携带病原物。

(1) 将采集的昆虫样本带回实验室后,分类。放入冰箱内冷藏。用 75% 的酒精对离心管进行消毒,将冷藏的昆虫放入离心管内,加入 1 mL 无菌水,每种昆虫单独个体离心处理。再使用无菌的胶头滴管吸取适量的离心底液,进行镜检(El-Hamalawi and Stanghellini, 2007),镜检后发现疑似孢子继续进行 PDA 接种纯化(Ansari

et al., 2009)。培养基组成: 马铃薯 200 g、葡萄糖 20 g、琼脂 20 g、水 1 000 mL, 其中加入适量抑制剂抑制细菌生长(司美茹等, 2004)。对不同种昆虫个体离心后底液进行接种, 每种昆虫接种 20 次。

(2) 病原真菌 DNA 提取: 真菌基因组 DNA 的提取采用 CTAB 法(Köljalg *et al.*, 2013)。

(3) 基因序列扩增与测序: 将提取的 DNA 模板使用通用引物 ITS1: 5'-TCCGTAGGTG-AACCTGCGG-3', ITS2: 5'-TCCTCCGCTTAT-TGATATGC-3'进行扩增, 反应体系为 25 μ L: 10 $\times$ PCR Buffer(2.5 μ L), 25 mmol MgCl₂(1 μ L), 10 mmol dNTP (2 μ L), 5 U/ μ L TaqDNA 酶 (0.5 μ L), 模板基因组 DNA (1 μ L), 上下游引物 (各 1 μ L), ddH₂O (16 μ L), PCR 反应条件为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 40 s, 57 $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 90 s, 共 35 个循环, 72 $^{\circ}$ C 温浴 10 min, 4 $^{\circ}$ C 保存; 产物用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测, 进行 DNA 测序。

(4) 序列比对分析: 将测序的菌株序列在 GenBank 中的核酸数据库中进行相关序列的相似性比较, 确定其分类地位。

1.3 数据统计与分析

采用单因素方差分析(多重比较 Turkey 法)及非参数检验 Kruskal-Wallis、Median、Jonckheere-Terpstra 方法比较物种组成差异性; 昆虫与玉米大斑病发生联系的相关性分析采用 R 统计软件数据分析 ‘pairs’、‘corrplot’、‘Hmisc’、‘PerformanceAnalytics’ 包。

2 结果与分析

2.1 农田内昆虫类群组成

由表 1 可知, 农田内的昆虫群落物由 9 个目所组成, 其中以双翅目、鞘翅目、鳞翅目的物种数居多, 分别为 14、11 和 11 种, 所占比例分别为 22.33%、18.33%和 18.33%, 而直翅目和革翅

表 1 大斑病暴发期农田内昆虫类群组成
Table 1 The composition of insect community during the occurrence of northern corn leaf blight

序号 Number	目 Order	科 Family	属 Genus	种 Species	物种多度占比(%) Species abundance Percentage	缩写 Abbrevia- tions
1	鞘翅目 Coleoptera	负泥虫科 Crioceridae	茎甲属 <i>Lilioceris</i>	中华负泥甲 <i>Lilioceris sinca</i>	0.22	LS
2			长跗萤叶甲属 <i>Monolepta</i>	双斑萤叶甲 <i>Monolepta hieroglyphica</i>	16.13	MH
3			小萤叶甲属 <i>Galerucella</i>	褐背小萤叶甲 <i>Galerucella grisescens</i>	0.16	GG
4			萤叶甲属 <i>Galeruca</i>	<i>Galeruca</i> sp.	7.26	CH
5	伪叶甲科 Lagriinae	伪叶甲科 Lagriinae	伪叶甲属 <i>Lagria</i>	黑胸伪叶甲 <i>Lagria nigricollis</i>	1.21	LN
6			象甲科 Curculionidae	象甲属 <i>Echinocnemus</i>	0.22	ES
7			瓢甲科 Coccinellidae	龟纹瓢虫属 <i>Propylea</i>	8.21	PJ
8			长足瓢虫属 <i>Harmonia</i>	十三星瓢虫 <i>Harmonia dimidiata</i>	2.32	HD
9			瓢虫属 <i>Harmonia</i>	异色瓢虫 <i>Harmonia axyridis</i>	8.53	HA
10			长足瓢虫属 <i>Harmonia</i>	<i>Harmonia</i> sp.	1.27	CO

续表 1 (Table 1 continued)

序号 Number	目 Order	科 Family	属 Genus	种 Species	物种多度占比(%) Species abundance Percentage	缩写 Abbrevia- tions
11	双翅目 Diptera	蚊形甲科 Anthicidae	角蚊形甲属 <i>Notoxus</i>	独角蚊形甲 <i>Notoxus monoceros</i>	33.25	NM
12		按蚊亚科 Anophelinae	疟蚊属 <i>Anopheles</i>	中华按蚊 <i>Anopheles sinensis</i>	0.04	AS
13		库蚊亚科 Culicinae	库蚊属 <i>Culex</i>	三带喙库蚊 <i>Culex tritaeniorhynchus</i>	0.04	CU
14		毛蚋科 Bibionidae	毛蚊属 <i>Bibio</i>	黑毛蚋 <i>Bibio emphysetarsus</i>	0.05	BE
15		果蝇科 Drosophilidae	果蝇属 <i>Drosophila</i>	黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i>	0.11	DM
16			果蝇属 <i>Drosophila</i>	<i>Drosophila</i> sp.	0.08	DR
17		食蚜蝇科 Syrphidae	黑带食蚜蝇属 <i>Zyistrophe</i>	黑带食蚜蝇 <i>Zyistrophe balteata</i>	1.21	ZB
18		长足寄蝇亚科 Dexiinae	长足寄蝇属 <i>Dexia</i>	<i>Dexia</i> sp.1	2.05	CA
19			长足寄蝇属 <i>Dexia</i>	<i>Dexia</i> sp.2	0.03	DE
20		麻蝇科 Sarcophagidae	麻蝇属 <i>Sarcophaga</i>	<i>Sarcophaga</i> sp.	0.5	SA
21	脉翅目 Neuroptera	缟蝇科 Sapromyzidae	同脉缟蝇属 <i>Homoneura</i>	<i>Homoneura</i> sp.	0.32	LA
22		食虫虻科 Asilidae	食虫虻属 <i>Laphria</i>	<i>Laphria</i> sp.	0.12	LAP
23		寄蝇科 Tachinidae	长腹寄蝇属 <i>Dolichocoxys</i>	<i>Dolichocoxys</i> sp.	0.08	DO
24		实蝇科 Tephritidae			1.37	TE
25		头蝇科 Pipunculidae			0.06	PI
26		草蛉科 Chrysopidae	通草蛉属 <i>Chrysoperla</i>	中华通草蛉 <i>Chrysoperla sinica</i>	0.32	CS
27		草蛉科 Chrysopidae			0.03	CHR
28	鳞翅目 Lepidoptera	溪蛉科 Osmylidae			0.23	OS
29		夜蛾科 Noctuidae	剑纹夜蛾属 <i>Acronicta</i>	桃剑纹夜蛾 <i>Acronicta incretata</i>	0.02	AI
30			剑纹夜蛾属 <i>Acronicta</i>	梨剑纹夜蛾 <i>Acronicta rumicis</i>	0.1	AR
31			地老虎属 <i>Agrotis</i>	小地老虎 <i>Agrotis ypsilon</i>	0.03	AG
32			光腹夜蛾属 <i>Mythimna</i>	玉米粘虫 <i>Mythimna separata</i>	0.03	MS

续表 1 (Table 1 continued)

序号 Number	目 Order	科 Family	属 Genus	种 Species	物种多度占比 (%) Species abundance Percentage	缩写 Abbrevia- tions
33		螟蛾科 Pyralidae	野秆螟属 <i>Ostrinia</i>	亚洲玉米螟 <i>Ostrinia furnacalis</i>	0.12	OST
34		斑蛾科 Zygaenidae	毛斑蛾属 <i>Pryeria</i>	大叶黄杨斑蛾 <i>Pryeria sinica</i>	0.02	PS
35		巢蛾科 Yponomeutidae	巢蛾属 <i>Yponomeuta</i>	稠李巢蛾 <i>Yponomeuta evonymallus</i>	0.95	YE
36		卷蛾科 Tortricidae	褐卷蛾属 <i>Pandemis</i>	苹褐卷蛾 <i>Pandemis heparana</i>	0.03	PH
37		灯蛾科 Arctiidae	污灯蛾属 <i>Spilarctia</i>	人纹污灯蛾 <i>Spilarctia subcarnea</i>	0.04	SS
38		尖蛾科 Cosmopterigidae	纹翅蛾属 <i>Labdia</i>	<i>Labdia</i> sp.	0.03	LAB
39		螟蛾科 Pyralidae			0.03	OSTR
40	异翅亚目 Heteroptera	网蝽科 Tingidae	窄眼网蝽属 <i>Birgitta</i>	吴窄眼网蝽 <i>Birgitta wuorentausi</i>	0.03	BW
41		红蝽科 Pyrrhocoridae	地红椿属 <i>Pyrrhocoris</i>	地红椿 <i>Pyrrhocoris tibiali</i>	0.03	PT
42		蝽科 Pentatomidae	茶翅蝽属 <i>Halyomorpha</i>	茶翅蝽 <i>Halyomorpha picus</i>	0.12	HP
43			菜蝽属 <i>Eurydema</i>	六斑菜椿象 <i>Eurydema dominulus</i>	0.02	ED
44		蝽亚科 Pentatominae	碧蝽属 <i>Palomena</i>	宽碧蝽 <i>Palomena viridissim</i>	0.03	PV
45		缘蝽科 Coreidae			0.02	HE
46		盲蝽科 Miridae			0.03	MD
47	同翅亚目 Homoptera	蚜总科 Aphidoidea	缢管蚜属 <i>Rhopalosiphum</i>	玉米蚜虫 <i>Rhopalosiphum maidis</i>	10.24	RM
48		沫蝉科 Cercopidae	尖胸沫蝉属 <i>Aphrophora</i>	柳沫蝉 <i>Aphrophora intermedia</i>	0.06	APH
49		飞虱科 Delphacidae			0.03	DEL
50	膜翅目 Hymenoptera	茧蜂科 Braconidae	柔茧蜂属 <i>Habrobracon</i>	麦蛾柔茧蜂 <i>Habrobracon hebetor</i>	1.03	HH
51		三节叶蜂科 Argidae	三节叶蜂属 <i>Arge</i>	榆叶蜂 <i>Arge captiva</i>	0.25	AC
52		姬蜂科 Ichneumonidae	白星姬蜂属 <i>Vulgichneumon</i>	粘虫白星姬蜂 <i>Vulgichneumon leucaniae</i>	0.22	VL
53		小蜂科 Chalcididae	大腿小蜂属 <i>Brachymeria</i>	广大腿小蜂 <i>Brachymeria lasus</i>	0.5	BL
54		螺赢科 Eumenidae			0.22	EPW
55	蜉蝣目 Ephemeroptera	蜉蝣科 Ephemeridae	小河蜉属 <i>Potamanthellus</i>	中国小河蜉 <i>Potamanthellus chinensis</i>	0.06	PC

续表 1 (Table 1 continued)

序号 Number	目 Order	科 Family	属 Genus	种 Species	物种多度占比 (%) Species abundance Percentage	缩写 Abbrevia- tions
56			蜉蝣属 <i>Ephemera</i>	吉林蜉 <i>Ephemera kirinensis</i>	0.06	EK
57			蜉蝣属 <i>Ephemera</i>	<i>Ephemera</i> sp.1	0.03	EP
58			蜉蝣属 <i>Ephemera</i>	<i>Ephemera</i> sp.2	0.01	EPH
59	革翅目 Dermaptera	蠹螋科 Labiduridae			0.02	FL
60	直翅目 Orthoptera	斑翅蝗科 Oedipodidae	小车蝗属 <i>Oedaleus</i>	亚洲小车蝗 <i>Oedaleus decorus asiaticus</i>	0.17	LO

目的物种数最低仅 1 种，所占比例为 1.67%。各类群物种所占比例依次为：双翅目>鞘翅目>鳞翅目>半翅目>膜翅目>蜉蝣目>脉翅目>直翅目 = 革翅目。根据农田内昆虫类群各物种多度对比分析，独角蚁形甲（NM）和双斑萤叶甲物种多度（MH）在农田显著高于其他昆虫（ $P<0.05$ ），分别占总量的 33%和 16%，为优势种群。

2.2 不同时期昆虫多样性组成与玉米大斑病发生量变化

由图 1 可知，昆虫个体物种组成数量随着玉米大斑病的病情指数的增高而增多。发病等级为 0.5 和 1 级相对较低级别时，与农田内昆虫个体数量无协同性。而当农田内部病斑数量增多，发病等级随之变化过程中，玉米大斑病发病等级随着昆虫物种种类的增加而升高。相关性分析结果表明（图 2），昆虫种类与玉米大斑病盛发期发

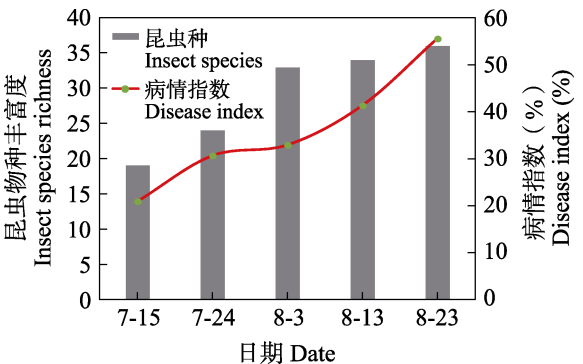


图 1 不同时期昆虫组成与玉米大斑病发生量变化关系
Fig. 1 The relationship between insect species richness and occurrence of northern corn leaf blight

病等级呈现正相关关系。当玉米大斑病发病程度为 0.5 级时，农田中昆虫数量与玉米大斑病相关性系数为 0.09；当玉米大斑病发病程度为 1 级时，二者相关性最高，系数为 0.29；而当玉米大斑病发病程度为 2 级时，农田中昆虫数量与玉米大斑病发生严重程度相关性低于 1 级。玉米大斑病发病等级为 3 级，农田内昆虫物种丰富度并未呈现与玉米大斑病发病等级一致高相关性。农田昆虫物种多度与玉米大斑病的发生具有一定协同性，

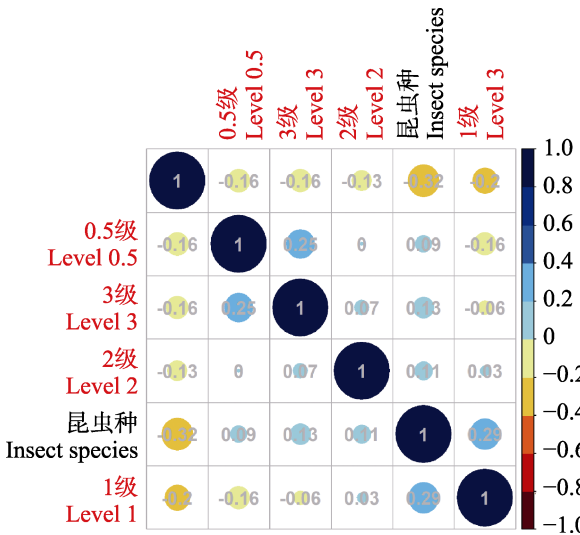


图 2 玉米大斑病病情指数变化与昆虫种群数量相关性
Fig. 2 The correlation between insect community and severity of northern corn leaf blight

Level 0.5、1、2、3 分别代表玉米大斑病不同发病等级；昆虫种表示物种数量。

Level in 0.5, 1, 2, 3 represent the different incidence grade; Insect species represent insects species richness.

但强度较弱。随着时间变化昆虫自身种群逐渐增加，玉米大斑病亦随着田间菌源积累量不断增加，借助其他途径加强传播而使发病强度增大。

2.3 培养基菌落发生情况与病原物 DNA 序列分析

由表 2 可以看出，接种后体壁携带玉米大斑病病原物昆虫种类组成为鞘翅目双斑萤叶甲、独角蚁形甲；双翅目实蝇科、食虫虻科、长足寄蝇亚科、蚊科。接种的鞘翅目昆虫体壁玉米大斑病

病原物携带率较高，分别达到总接种量的 20% 和 25%，双翅目昆虫长足寄蝇亚科、蚊科携菌率最低，仅为 5%；携菌昆虫种类组成分析结果表明，双翅目昆虫体壁携带病原物昆虫种类组成高于鞘翅目（图 3）。经过取自虫体及叶片上病原物接种纯化后的病原物的 rDNA-ITS 全序列分析测定结果表明：两种病原物的 rDNA-ITS 区序列 PCR 产物经测序均为 550 bp 的核苷酸序列，与 GenBank 中已有的序列进行 Blast 分析，证明二者为同一种真菌，即玉米大斑病（图 4）。

表 2 不同昆虫离心液接种后培养基内玉米大斑病病原物出现情况
Table 2 The number of *Exserohilum turcicum* in culture medium after inoculation with different insect centrifuges

昆虫种类 Insect species	虫体接种量 Number of insect inoculation	携菌个体数 Number of carrying pathogen	虫体携菌率(%) Carrying pathogen rate
双斑萤叶甲 <i>Monolepta hieroglyphica</i>	20	4	20
独角蚁形甲 <i>Notoxus monoceros</i>	20	5	25
中华按蚊 <i>Anopheles sinensis</i>	20	1	5
长足寄蝇属 <i>Dexia</i>	20	1	5
食虫虻属 <i>Laphria</i>	20	2	10
实蝇科 Tephritidae	20	3	15

昆虫个体离心底液接种后未发现玉米大斑病病原物昆虫种类未列入表中。
Insects don't carry the pathogen are not included in the table.

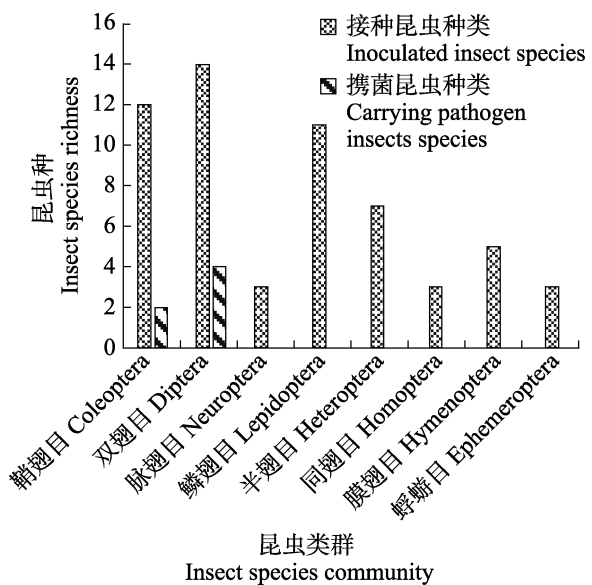


图 3 农田内携菌昆虫种类组成
Fig. 3 Number of carrying pathogen insects species in the community in the field

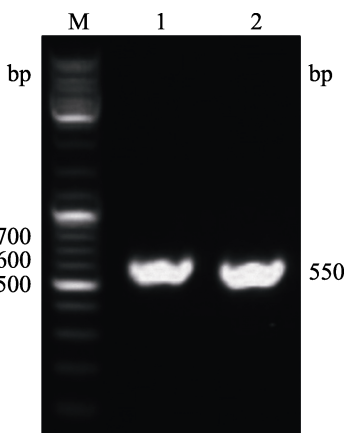


图 4 病原菌的 rDNA-ITS 区序列 PCR 产物
Fig. 4 PCR of rDNA-ITS of the pathogen
1: 虫体上室内培养基分离玉米大斑病病原物；2: 玉米叶片上室内培养基分离玉米大斑病病原物；
M: DNA 分子量标准。
1: Isolation of *E. turcicum* from the insects body leaf;
2: Isolation of *E. turcicum* from corn leaf (2); M: DNA marker.

3 结论与讨论

本实验对玉米大斑病盛发期内农田昆虫种群调查, 共发现 9 目, 60 种昆虫。其中鞘翅目昆虫个体数量最多, 双翅目在田间发生的种类最多。农田玉米内大斑病发病严重等级及病情指数与昆虫种群组成呈不显著正相关关系。然而, 农田内玉米大斑病盛发期正值 7-8 月, 而昆虫在受季节、气候及食物资源影响下, 在此时亦为发生盛期, 二者存在物候期重叠 (Zebitz *et al.*, 1990; Simon and Hilker, 2005), 因此发生时间的重叠是植物病原物与昆虫发生联系的关键。鞘翅目双斑萤叶甲、独角蚁形甲, 双翅目蚊科、食虫虻科、长足寄蝇科、实蝇科昆虫可携带玉米大斑病病原物。尽管在植物病害流行学层面属于多循环性病害并借助空气流动及雨水以孢子方式进行侵染传播 (赵书文等, 2005), 但在此过程中, 由于该类植食性昆虫具有取食植物病原物组织习性 (Johnson *et al.*, 2003; Simon and Hilker, 2005), 这促进植食性昆虫种群密度的增加, 进而提高了植物病原物对植物侵染几率 (Tack *et al.*, 2012), 同时, 植物病原物的侵染也改变了对昆虫的引诱作用以及空间分布 (Simon and Hilker, 2015)。在昆虫体壁携带病原物前提下, 相关分析结果表明昆虫物种丰富度与玉米大斑病发病严重程度相关程度较弱, 因此, 昆虫自身种群发展对玉米大斑病大发生几乎无影响。植物病原物——植食性昆虫之间建立的互惠及对称结构联系 (Karban *et al.*, 1987), 可能会在玉米长期种植过程中使农田内玉米大斑病与以病斑上病原物为食植食性昆虫逐渐形成相对稳定的结构及联系。进一步研究中, 应结合昆虫食性与植物病原物关系, 确定农田昆虫与玉米大斑病联系机制建立。

参考文献 (References)

Andersen AN, Toro ID, Parr CL, 2015. Savanna ant species richness is maintained along a bioclimatic gradient of increasing latitude and decreasing rainfall in northern Australia. *Journal of Biogeography*, 42(12): 2313–2322.

Ansari MA, Evans M, Butt TM, 2009. Identification of pathogenic strains of entomopathogenic nematodes and fungi for wireworm

control. *Crop Protection*, 28(3): 269–272.

El-Hamalawi ZA, Stanghellini M, 2007. Disease development on *lisianthus* following aerial transmission of *Fusarium avenaceum* by adult shore flies, fungus gnats, and moth flies. *Plant Disease*, 89(6): 619–623.

El-Hamalawi ZA, 2010. Acquisition, retention and dispersal of soilborne plant pathogenic fungi by fungus gnats and moth flies. *Annals of Applied Biology*, 153(2): 195–203.

Gao WD, Dai FC, 1993. New progress in research on northern corn leaf blight. *Acta Phytopathologica Sinica*, 23(3): 193–195. [高卫东, 戴法超, 1993. 玉米大斑病研究的新进展. 植物病理学报, 23(3): 193–195.]

GB/T 23391.1-2009, 2009. Technical specification for control of northern corn leaf blight, southern corn leaf blight and Asian corn borer—Part1: Northern corn leaf blight. Standardization Administration, General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China, Beijing. [GB/T 23391.1-2009, 2009. 玉米大、小斑病和玉米螟防治技术规范. 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局国家标准化管理委员会. 北京.]

Goldberg NP, 1990. Ingestion-egestion and aerial transmission of *Pythium aphanidermatum* by shore flies (Ephydriidae: *Scatella stagnalis*). *Phytopathology*, 80(11): 1244–1246.

Jarvis WR, Shipp JL, Gardiner RB, 2010. Transmission of *Pythium aphanidermatum* to greenhouse cucumber by the fungus gnat *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae). *Annals of Applied Biology*, 122(1): 23–29.

Johnson SN, Douglas AE, Woodward S, Hartley SE, 2003. Microbial impacts on plant-herbivore interactions: The indirect effects of a birch pathogen on a birch aphid. *Oecologia*, 134(3): 388–396.

Kalb DW, Millar RL, 1986. Dispersal of *Verticillium albo-atrum* by the fungus gnat (*Bradysia impatiens*). *Plant Disease*, 70(8): 752–753.

Karban R, Adamchak R, Schnathorst WC, 1987. Induced resistance and interspecific competition between spider mites and a vascular wilt fungus. *Science*, 235(4789): 678–680.

Kennedy MK, 1974. Survival and development of *Bradysia impatiens* (Diptera: Sciaridae) on fungal and non-fungal food sources. *Annals of the Entomological Society of America*, 67(5): 745–749.

Köljal U, Nilsson, RH, Abarenkov K, Tedersoo L, Taylor AFS, Bahram M, Bate ST, Bruns TD, Bengtsson-Palme J, Callaghan TM, Douglas B, Drenkhan T, Eberhardt U, Dueñas M, Grebenc T, Griffith GW, Hartmann M, Kirk PM, Kohout P, Larsson E, Lindahl B, Lücking R, Martín MP, Matheny PB, Nguyen NH, Niskanen T, Oja J, Peay KG, Peintner U, Peterson M, Põldmaa K, Saag L, Saar I, Schöbeler, A, Scott JA, Senés C, Smith ME, Suija

- A, Taylor DL, Telleria MT, Weiss M, Larsson KH, 2013. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi. *Molecular Ecology*, 22(21): 5271–5277.
- Leath KT, Newton RC, 1969. Interaction of a fungus gnat, *Bradysia* sp. (Sciaridae) with *Fusarium* spp. on alfalfa and red clover. *Phytopathology*, 59(2): 257–258.
- Lefebvre V, Villemant C, Fontaine C, Daugeron C, 2018. Altitudinal, temporal and trophic partitioning of flower-visitors in alpine communities. *Scientific Reports*, 8(1): 4706.
- Liu XD, 2013. Sampling techniques of insects in the field. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 50(3): 863–867. [刘向东, 2013. 田间昆虫的取样调查技术. 应用昆虫学报, 50(3): 863–867.]
- Mitchell PL, 2004. Heteroptera as vectors of plant pathogens. *Neotropical Entomology*, 33(5): 519–545.
- Nault LR, 1997. Arthropod transmission of plant viruses: A new synthesis. *Annals of the Entomological Society of America*, 90(5): 521–541.
- Newton AC, Begg GS, Swanston JS, 2009. Deployment of diversity for enhanced crop function. *Annals of Applied Biology*, 154(3): 309–322.
- Shi XB, Xie W, Zhang YJ, 2012. Advances in the characteristics and mechanisms of the transmission of plant viruses by insect vectors. *Acta Entomologica Sinica*, 55(7): 841–848. [史晓斌, 谢文, 张友军, 2012. 植物病毒病媒介昆虫的传毒特性和机制研究进展. 昆虫学报, 55(7): 841–848.]
- Shi Y, Wang YZ, Tang QB, Yan FM, 2013. Interactions between insect vector behavior and plant virus transmission. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 50(6): 1719–1725. [施艳, 王英志, 汤清波, 闫凤鸣, 2013. 昆虫介体行为与植物病毒的传播. 应用昆虫学报, 50(6): 1719–1725.]
- Si MR, Xue QH, Lai HX, 2004. Studies on selection of the isolation medium for actinomycetes and inhibition methods to miscellaneous microorganism. *Microbiology*, 31(2): 61–65. [司美茹, 薛泉宏, 来航线, 2004. 放线菌分离培养基筛选及杂菌抑制方法研究. 微生物学通报, 31(2): 61–65.]
- Simon M, Hilker M, 2005. Does rust infection of willow affect feeding and oviposition behavior of willow leaf beetles? *Journal of Insect Behavior*, 18(1): 115–129.
- Simon M, Hilker M, 2015. Herbivores and pathogens on willow: Do they affect each other? *Agricultural & Forest Entomology*, 5(4): 275–284.
- Stanghellini ME, Rasmussen SL, Kim DH, 1990. Ingestion-egestion and aerial transmission of *Thielaviopsis basicola*, a root and stem pathogen of corn-salad, by adult shore flies. *Phytopathology*, 80(11): 1244–1246.
- Tack AJM, Gripenberg S, Roslin T, 2012. Cross-kingdom interactions matter: Fungal-mediated interactions structure an insect community on oak. *Ecology Letters*, 15(3): 177–185.
- Zhang B, Guo QM, 2016. Study on the planting structure and ecological environment of corn belt in Jilin province. *Journal of Maize Science*, 24(3): 162–166. [张彬, 郭庆海, 2016. 吉林省玉米带种植结构与生态环境问题研究. 玉米科学, 24(3): 162–166.]
- Zhao SW, Yang XL, Guo D, 2005. Epidemic causes of *Exserohilum turcicum* and its integrated management measures. *China Plant Protection*, 25(3): 10–11. [赵书文, 杨秀林, 郭东, 2005. 玉米大斑病的流行原因与综合治理措施. 中国植保导刊, 25(3): 10–11.]
- Zebitz CPW, Boehnke B, Kehlbenbeck H, Kral G, 1990. Stability of partial resistance to black bean aphid in a faba bean cultivar infested with several fungal diseases. *Bulletin SROP*, 4(4): 9015–9022.