

渐狭蜡蚧菌对西花蓟马卵黄原蛋白的影响*

张 洋** 谢 文** 郅军锐*** 周叶鸣 李定银 度 露

(贵州大学昆虫研究所, 贵州省山地农业病虫害重点实验室, 贵阳 550025)

摘 要 【目的】明确渐狭蜡蚧菌 *Lecanicillium attenuatum* 对西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* 卵黄原蛋白 (Vg) 的影响, 为西花蓟马的生物防治提供理论依据。【方法】采用浸虫法研究了渐狭蜡蚧菌单次和多次侵染西花蓟马 2 龄若虫后对 F₁-F₃ 代雌成虫卵黄原蛋白表达量和含量的影响。【结果】在两性生殖方式下, 渐狭蜡蚧菌单次侵染西花蓟马 2 龄若虫时, 只有 F₂ 代 Vg 表达量显著高于对照 ($P<0.05$); 渐狭蜡蚧菌多次侵染后, 只有 F₁ 代 Vg 表达量明显高于对照 ($P<0.05$)。在孤雌生殖方式下, 不论单次侵染还是多次侵染, F₂ 和 F₃ 代 Vg 表达量均明显高于对照 ($P<0.05$)。在两性生殖方式下, 不论渐狭蜡蚧菌单次侵染还是多次侵染, F₁ 和 F₂ 代的 Vg 含量均显著高于对照 ($P<0.05$); 在孤雌生殖方式下, 单次侵染处理后 F₁ 和 F₂ 代 Vg 含量均显著高于对照 ($P<0.05$), 多次侵染处理下 3 个世代均显著升高 ($P<0.05$)。【结论】渐狭蜡蚧菌侵染显著影响西花蓟马卵黄原蛋白的表达量及其含量, 且影响程度与侵染次数、蓟马的世代及生殖方式有关。

关键词 西花蓟马; 渐狭蜡蚧菌; 卵黄原蛋白; 生殖; 生物防治

The effect of *Lecanicillium attenuatum* on vitellogenin in *Frankliniella occidentalis*

ZHANG Yang** XIE Wen** ZHI Jun-Rui*** ZHOU Ye-Ming LI Ding-Yin TUO Lu

(The Provincial Key Laboratory for Agricultural Pest Management of the Mountainous Region, Institute of Entomology, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract [Aim] To clarify the effect of infection by *Lecanicillium attenuatum* on the vitellogenin (Vg) of *Frankliniella occidentalis*. [Methods] The effect of single, and multiple, infections of *L. attenuatum* on Vg expression and content in adult female *F. occidentalis* were studied from the F₁ to the F₃ generations. [Results] Expression of Vg in the F₂ generation was significantly higher than in the control when second instar larvae produced by gamogenesis were only infected once by *L. attenuatum* ($P<0.05$). Vg expression was markedly higher in the F₁ generation compared to the control when second instar larvae produced by gamogenesis were repeatedly infected by *L. attenuatum* ($P<0.05$). Vg expression levels in F₂ and F₃ generations produced by parthenogenesis were significantly higher than in the control following both single and multiple infections ($P<0.05$). Vg content of F₁ and F₂ generations produced by gamogenesis, were markedly higher than that of the control ($P<0.05$). Vg content of F₁ and F₂ generations produced by parthenogenesis were markedly higher than that of the control after a single infection by *L. attenuatum* ($P<0.05$), however, the Vg content of all three generations increased significantly after multiple infections ($P<0.05$). [Conclusion] Infection with *L. attenuatum* significantly affects Vg expression and content in *F. occidentalis*, with the effect varying with the frequency of infection, the generation of *F. occidentalis*, and the mode of reproduction of *F. occidentalis* (gamogenesis or parthenogenesis).

Key words *Frankliniella occidentalis*; *Lecanicillium attenuatum*; vitellogenin; reproduction; biological control

*资助项目 Supported projects: 大学生创新创业训练计划 (S202110657129); 国家自然科学基金 (31860507)

**共同第一作者 Co-first authors, E-mail: 15922820650@163.com; 694226217@qq.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: zhijunrui@126.com

收稿日期 Received: 2024-06-13; 接受日期 Accepted: 2025-06-30

西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* 又叫苜蓿蓟马, 是一种重要的农业害虫, 隶属于缨翅目 Thysanoptera 蓟马科 Thripidae (袁嘉雯等, 2021), 自 2003 年在北京首次被报道其为害以来 (张友军等, 2003), 逐渐分布至云南、贵州、山东和浙江等多个地区 (樊宗芳等, 2022)。西花蓟马寄主范围广, 寄主植物可达 500 余种, 因其直接取食、产卵和传播多种病毒, 对经济和园艺作物造成了严重的损失 (Abd-El-Haliem *et al.*, 2018)。目前, 西花蓟马的防治主要以化学防治为主, 但西花蓟马凭借其强大的适应性, 可孤雌生殖和生活周期短等特点, 对多种化学杀虫剂产生了不同程度的抗药性, 使得化学防治收效甚微 (Gao *et al.*, 2012)。生物防治因其绿色安全和不易产生抗性等特点逐渐受到人们重视。常见的生物防治主要包括虫生真菌、捕食性天敌和寄生性天敌等的利用 (Wu *et al.*, 2015)。

作为重要的虫生真菌之一, 蜡蚧菌 *Lecanicillium* 通过分生孢子附着、萌发、穿透昆虫体壁, 然后在昆虫体内定殖繁殖、最终通过营养竞争和毒素分泌等导致寄主死亡 (Xie *et al.*, 2024)。蜡蚧菌对多种害虫如棉蚜 *Aphis gossypii*、烟粉虱 *Bemisia tabaci*、榕管蓟马 *Gynaikothrips uzeli* 等有较高的致病力 (Kim *et al.*, 2010; 王金明, 2012; 张召荣等, 2015; 谢文等, 2020)。本课题组前期已筛选出对西花蓟马高致病力的渐狭蜡蚧菌 *L. attenuatum* 和蛀虫蜡蚧菌 *L. cauligalbarum*, 两种蜡蚧菌对西花蓟马的生长发育和繁殖产生明显的不利作用 (Zhou *et al.*, 2020b)。

卵黄原蛋白 (Vitellogenin, Vg) 是评估昆虫雌性生殖能力的一种重要蛋白质, 是由与昆虫生殖密切相关的卵黄原蛋白前体转化而成, 为卵子成熟和胚胎发育提供氨基酸、脂肪酸、磷脂碳水化合物和微量元素等营养和功能性物质 (王随随, 2021; 李佳鹏等, 2022)。谢文 (2022) 研究表明渐狭蜡蚧菌侵染对西花蓟马的卵巢发育产生明显的不利影响, 但渐狭蜡蚧菌侵染西花蓟马后其体内 Vg 基因表达量以及 Vg 含量是否变化不得而知。因此, 本文研究了渐狭蜡蚧菌单次

和多次侵染西花蓟马后, 西花蓟马不同世代及不同生殖方式下体内卵黄原蛋白的表达量和含量的变化, 为深入理解渐狭蜡蚧菌对西花蓟马生殖的影响具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 供试虫源 西花蓟马: 饲养于贵州大学昆虫研究所实验室, 以新鲜菜豆豇为食料 (使用前清水浸泡 30 min, 清洗晾干), 在 RXZ 型多段编程人工气候箱中 [温度 (25±1) °C, 相对湿度 75%±5%, 光周期 14 L : 10 D] 饲养繁殖多代, 选取生长发育一致的成虫作为供试虫源。

1.1.2 供试真菌及培养基 渐狭蜡蚧菌 (菌株号: GZUIFR-lun1405) 来源于贵州大学真菌资源研究所菌种保藏中心, 于 4 °C 冰箱中冷藏 (需活化使用), 备用。

马铃薯-葡萄糖琼脂培养基 (Potato Dextrose Agar, PDA): 按照葡萄糖 20 g、琼脂 20 g 和马铃薯淀粉 6 g 的成分比例配制。把相应重量的葡萄糖、琼脂和马铃薯淀粉加入蒸馏水定容至 1 000 mL, 装至三角锥瓶中, 并放置于高压灭菌锅中 121 °C 灭菌 20 min, 倒入无菌培养皿中冷却备用。

1.2 实验方法

1.2.1 渐狭蜡蚧菌活化及孢子悬浮液制备

1.2.1.1 菌株活化 将装有渐狭蜡蚧菌分生孢子的斜面培养基 (贮存于 4 °C 冷藏冰箱) 置于无菌操作台中, 刮取分生孢子并接种至 1.1.2 节冷却后的 PDA 培养基上, 置于恒温培养箱 [温度 (25±1) °C, 相对湿度 75%±5%, 光周期 14 L : 10 D] 中进行活化培养, 待培养至 15-20 d 后继续以同样的方法培养多代菌株, 备用。

1.2.1.2 孢子悬浮液制备 配制的 0.025% 的吐温 - 80 洗脱液 (100 μL 吐温 - 80; 400 mL 去离子水) 于三角锥瓶中, 使用高温灭菌锅 121 °C 灭菌 30 min, 待冷却后备用。待渐狭蜡蚧菌分生孢子活化培养 20 d 后, 用手术刀或药匙轻轻刮取 PDA 固体培养基上的渐狭蜡蚧菌孢子粉于装

有灭菌处理后的 0.025% 的吐温 - 80 洗脱液的离心管中, 充分振荡摇匀, 再用移液枪将少许孢子悬浮液滴入血球计数板中, 放置于显微镜 (奥拓光学 BK-5000) 下进行观察计数, 配置成浓度为 1×10^8 个/mL 的孢子悬浮液。

1.2.2 渐狭蜡蚧菌对西花蓟马单次和多次侵染处理 多次侵染处理: 渐狭蜡蚧菌分别侵染 F_1 、 F_2 和 F_3 代的西花蓟马 2 龄若虫; 单次侵染: 渐狭蜡蚧菌只侵染 F_1 代西花蓟马 2 龄若虫, F_2 和 F_3 代西花蓟马 2 龄若虫用吐温 - 80 处理。

具体处理如下: 随机从养虫盒中选择 100 头已羽化 3-5 d 的西花蓟马成虫放入新的养虫盒 (长×宽×高=21 cm×13 cm×9 cm, 盒盖开口并用 200 目尼龙网封口) 中, 添加新鲜菜豆豆荚使其在菜豆豆荚上产卵 24 h, 然后移除成虫。每天早晚 8:00 观察带有卵的菜豆豆荚, 待卵孵化出若虫后, 立即把若虫转移到新的养虫盒中, 并添加新鲜菜豆豆荚, 将若虫记为 F_1 代若虫。待 F_1 代若虫发育到 2 龄若虫后, 分两组进行处理: (1) 渐狭蜡蚧菌处理: 随机挑取部分 2 龄若虫, 将其轻轻抖入玻璃管中 (直径 3.5 cm, 高 4.0 cm, 一端开口, 另一端用 200 目尼龙网封口), 用移液枪吸取 1×10^8 个/mL 的渐狭蜡蚧菌孢子悬浮液均匀滴在 2 龄若虫上, 浸没 10 s, 然后将玻璃管置于干净的滤纸上, 将多余的液体吸干, 并将指型管内处理的 2 龄若虫转移至装有新鲜菜豆豆荚的干净养虫盒中继续饲养, 标记为 LT; (2) 对照处理: 操作同上, 只是将 2 龄若虫浸没适量的 0.025% 的吐温 - 80 (移液枪吸取), 标记为 CK。

当上述养虫盒内的 LT 和 CK 西花蓟马羽化至成虫后, 将其标记为 F_1 代成虫, 待成虫羽化至 3-5 d 时, 使成虫继续产卵发育至 F_2 代 2 龄若虫, 然后分别进行两种处理: 一种处理是继续使用渐狭蜡蚧菌处理 F_2 代的 2 龄若虫, 标记为 F_2

代 LT; 另一种用 0.025% 吐温 - 80 处理, 标记为 F_2 代 TT。处理后的西花蓟马继续用新鲜的菜豆豆荚饲养至 F_2 代成虫, 继续饲养至 F_3 代 2 龄若虫, 同样分别用渐狭蜡蚧菌处理或 0.025% 吐温 - 80 处理, 分别记为 F_3 代 LT 和 F_3 代 TT。

根据以上处理, 渐狭蜡蚧菌单次处理后不同世代的西花蓟马分别是 F_1 代-LT、 F_2 代-TT 和 F_3 代-TT; 渐狭蜡蚧菌多次处理后不同世代的西花蓟马分别是 F_1 代-LT、 F_2 代-LT 和 F_3 代-LT。各处理各世代的西花蓟马 2 龄若虫羽化至成虫 < 2 h 后, 立即将其分别进行两性生殖 (雌雄成虫 1 : 1 配对) 与孤雌生殖 (雌成虫未配对) 两种处理, 最后得到羽化 3 d 的西花蓟马雌成虫作为供试虫源, 进行 *Vg* 基因表达量和 *Vg* 含量的测定。

1.2.3 *Vg* 基因表达量的测定 用吸虫器分别吸取 1.2.2 节中各处理各世代羽化 3 d 的西花蓟马雌成虫至 1.5 mL RNA 提取专用离心管中, 迅速放进液氮内速冻备用。每个处理 30 头蓟马, 重复 3 次。

利用 Eastep® Super Total RNA Extraction Kit 提取西花蓟马雌成虫总 RNA, 于 - 80 °C 保存备用。以总 RNA 为模板, 根据反转录第一链 cDNA 合成试剂盒 (Thermo scientific) 说明书合成 cDNA, 于 - 20 °C 保存备用。然后根据 FastStart Essential DNA Green Master (Roche) 试剂盒进行 qRT-PCR 测定。体系反应完毕后分析溶解曲线, 收集目的基因和内参基因 Ct 值。

西花蓟马 *Vg* 基因特异性引物参照 Qian 等 (2021), 以西花蓟马 *EF-1* 作为内参基因 (Zheng *et al.*, 2014), 引物序列见表 1, 引物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。

1.2.4 西花蓟马 *Vg* 含量的测定 *Vg* 含量的测定根据上海酶联生物科技有限公司的昆虫卵黄蛋白酶免疫分析试剂盒说明书的步骤进行。各处理 30 头蓟马, 重复 3 次。

表 1 qRT-PCR 基因及特异性引物
Table 1 qRT-PCR genes and specific primers

基因 Gene	反向引物 (5'-3') Reverse primer (5'-3')	正向引物 (5'-3') Forward primer (5'-3')
<i>Vg</i>	CCAGCTTACTGTTTCAGCCCA	TCAGCTTGCTGTCCTGGATG
<i>EF-1</i>	ACAGGGGTGTAGCCGTTAGAG	TCAAGGAACTGCGTCGTGGAT

1.3 数据分析

目的基因和内参基因的 Ct 值等数据用 Excel 2016 进行统计, 用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 相对定量法 (Livak and Schmittgen, 2001) 计算目的基因的相对表达量。数据均采用 SPSS 21.0 软件进行单因素方差分析, 并以平均值 $\pm$ 标准误表示。采用 Tukey 检验法对西花蓟马不同处理间的雌成虫 *Vg* 表达量及 *Vg* 含量的差异进行显著性检验; 采用独立样本 *t* 检验法对 *Vg* 表达量及 *Vg* 含量在两种生殖方式下的差异进行显著性检验。

2 结果与分析

2.1 渐狭蜡蚧菌对西花蓟马 *Vg* 基因表达量的影响

2.1.1 渐狭蜡蚧菌单次侵染对西花蓟马 *Vg* 表达量的影响 在两性生殖方式下, 当渐狭蜡蚧菌仅单次侵染 F_1 代西花蓟马 2 龄若虫时, 西花蓟马不同世代的 *Vg* 表达量有不同的变化 (图 1)。其中 F_1 代两性生殖的雌成虫 *Vg* 表达量变化不明显 ($P > 0.05$), 而 F_2 代 *Vg* 表达量显著高于对照使用 0.025% 吐温 - 80 进行处理 ($P < 0.05$), 为对照组的 2.01 倍, F_3 代雌成虫 *Vg* 表达量又下降到对照水平 ($P > 0.05$)。

在孤雌生殖方式下, 不同世代的 *Vg* 表达量也有不同程度的变化 (图 1)。 F_1 代 *Vg* 的表达量与对照无显著差异 ($P > 0.05$), F_2 和 F_3 代 *Vg* 的表达量则显著高于对照 (F_2 : $P < 0.05$; F_3 : $P < 0.001$), 分别为对照的 1.90 和 3.08 倍。

同一时间下, 两种生殖方式下西花蓟马 *Vg* 的表达量不完全相同 (图 1)。对照组和 F_2 代, *Vg* 表达量在两种生殖方式下无显著差异 (CK: $P > 0.05$; F_2 : $P > 0.05$)。 F_1 代两性生殖的雌成虫 *Vg* 表达量显著高于孤雌生殖的雌成虫 ($P < 0.05$), 为孤雌生殖的 1.57 倍。 F_3 代则相反, 孤雌生殖的雌成虫 *Vg* 表达量显著高于两性生殖的雌成虫 ($P < 0.001$)。

2.1.2 渐狭蜡蚧菌多次侵染对西花蓟马 *Vg* 表达量的影响 在两性生殖方式下, 除 F_1 代西花蓟马 *Vg* 的表达量明显上升外 ($P < 0.05$), F_2 和 F_3

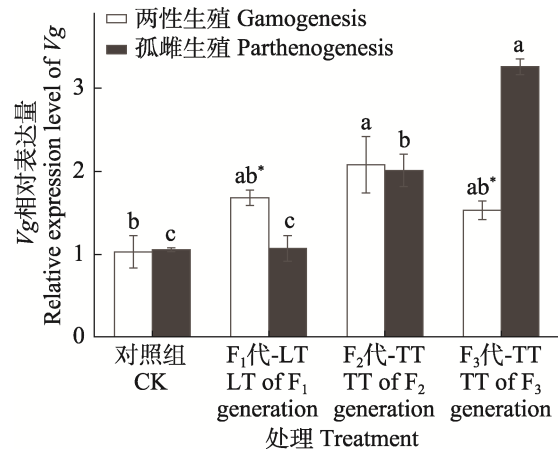


图 1 渐狭蜡蚧菌单次侵染后西花蓟马卵黄原蛋白基因 *Vg* 的表达水平

Fig. 1 The expression level of *Vg* in *Frankliniella occidentalis* after single infection of *Lecanicillium attenuatum*

图中数据为平均值 $\pm$ 标准误。柱上不同小写字母表示同一生殖方式下不同处理间的差异显著性 ($P < 0.05$, Turkey 多重比较检验); *表示同一处理下两种生殖方式下的差异显著性 ($P < 0.05$, 独立样本 *t* 检验)。对照组表示 F_1 代西花蓟马使用 0.025% 吐温 - 80 进行处理; F_1 代-LT 表示 F_1 代西花蓟马使用渐狭蜡蚧菌处理; F_2 代-TT 和 F_3 代-TT 分别表示 F_2 代和 F_3 代西花蓟马使用 0.025% 吐温 - 80 处理。下图同。

Data in the figure are presented as mean $\pm$ SE. Different lowercase letters above bars indicate significant difference among different treatments at the same reproductive pattern ($P < 0.05$, Turkey's multiple range test); * represents the significant difference between the two reproductive patterns at the same treatments ($P < 0.05$, independent-samples *t*-test). CK represents *F. occidentalis* of F_1 generation were treated with 0.025% Tween-80. LT of F_1 generation represents *F. occidentalis* of F_1 generation were treated with *L. attenuatum*, TT of F_2 generation and of F_3 generation represent *F. occidentalis* of F_2 and F_3 were treated with 0.025% Tween-80, respectively. The same below.

代两性生殖的雌成虫 *Vg* 表达量与对照均没有明显的差异 ($P > 0.05$) (图 2)。

在孤雌生殖方式下, F_1 代西花蓟马 *Vg* 表达量没有明显变化 ($P > 0.05$), 但 F_2 和 F_3 代西花蓟马雌成虫 *Vg* 表达量均显著上升 (F_2 : $P < 0.05$; F_3 : $P < 0.001$), 分别为对照组的 1.61 和 2.18 倍。

经过渐狭蜡蚧菌多次处理后, F_1 代两性生殖雌成虫 *Vg* 表达量显著高于孤雌生殖 ($P < 0.05$); 而 F_2 和 F_3 代则相反, 孤雌生殖的雌成虫 *Vg* 表达量显著高于两性生殖的雌成虫 (F_2 : $P < 0.05$;

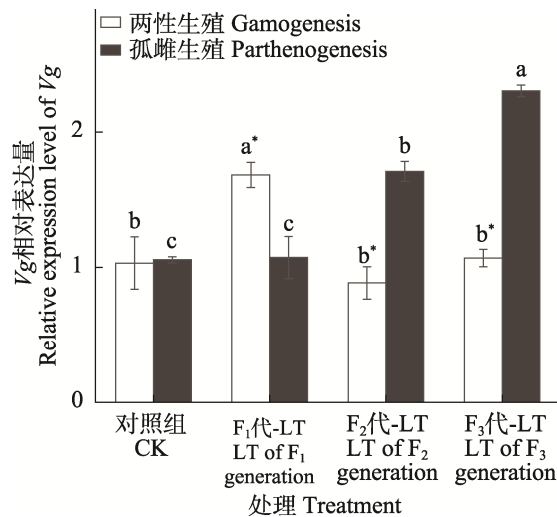


图 2 渐狭蜡蚧菌多次侵染后西花蓟马卵黄原蛋白基因 *Vg* 的表达水平

Fig. 2 The expression level of *Vg* in *Frankliniella occidentalis* after multiple infections of *Lecanicillium attenuatum*

F_3 ; $P < 0.001$), 分别为两性生殖的 1.93 和 2.15 倍。

2.2 渐狭蜡蚧菌对西花蓟马 *Vg* 含量的影响

2.2.1 渐狭蜡蚧菌单次侵染对西花蓟马 *Vg* 含量的影响 渐狭蜡蚧菌单次侵染后西花蓟马 *Vg* 含量的变化见表 2。在两性生殖下, 对照西花蓟马雌成虫第 3 天体内 *Vg* 含量为 $7.02 \mu\text{g}/\text{mg}$, 当渐狭蜡蚧菌仅处理 F_1 代西花蓟马 2 龄若虫时, 不同世代间的 *Vg* 含量有明显差异。 F_1 代两性生殖的雌成虫体内 *Vg* 含量显著高于对照 ($P < 0.05$), 为 $13.99 \mu\text{g}/\text{mg}$; F_2 代 2 龄若虫虽未用渐狭蜡蚧菌处理, 但其两性生殖的雌成虫 *Vg* 含量为 $13.55 \mu\text{g}/\text{mg}$, 仍显著高于对照组 ($P < 0.05$); F_3 代雌成虫 *Vg* 含量下降至对照水平, 为 $7.13 \mu\text{g}/\text{mg}$ 。

孤雌生殖时, 对照西花蓟马雌成虫第 3 天体内 *Vg* 含量为 $5.66 \mu\text{g}/\text{mg}$; F_1 、 F_2 和 F_3 代雌成虫 *Vg* 含量均显著高于对照 ($P < 0.05$), 其中 F_1 、 F_2 和 F_3 代 *Vg* 含量分别为 11.44、11.39 和 $12.37 \mu\text{g}/\text{mg}$, 但 3 个世代间的差异不显著 (F_1 vs F_2 : $P > 0.05$; F_1 vs F_3 : $P > 0.05$; F_2 vs F_3 : $P > 0.05$)。

对于同一时间下, 西花蓟马雌成虫 *Vg* 含量在两性生殖和孤雌生殖方式下也不完全相同。对照组、 F_1 和 F_2 代均是两性生殖方式下的西花蓟马 *Vg* 含量高于孤雌生殖方式下的 *Vg* 含量, 但在

F_1 和 F_2 代, 差异并不显著 (F_1 : $P > 0.05$; F_2 : $P > 0.05$)。在 F_3 代, 则是孤雌生殖的西花蓟马 *Vg* 含量高于两性生殖的西花蓟马 *Vg* 含量 ($P < 0.05$)。

表 2 渐狭蜡蚧菌单次侵染对西花蓟马卵黄原蛋白含量的影响 ($\mu\text{g}/\text{mg}$)

Table 2 Effect of single infection of *Lecanicillium attenuatum* on *Vg* content of *Frankliniella occidentalis* ($\mu\text{g}/\text{mg}$)

处理 Treatment	两性生殖 Gamogenesis	孤雌生殖 Parthenogenesis
对照组 CK	$7.02 \pm 0.35 \text{ b}^*$	$5.66 \pm 0.29 \text{ b}$
F_1 代-LT LT of F_1 generation	$13.99 \pm 1.62 \text{ a}$	$11.44 \pm 1.04 \text{ a}$
F_2 代-TT TT of F_2 generation	$13.55 \pm 0.61 \text{ a}$	$11.39 \pm 0.56 \text{ a}$
F_3 代-TT TT of F_3 generation	$7.13 \pm 1.07 \text{ b}^*$	$12.37 \pm 1.54 \text{ a}$

表中数据为平均值 $\pm$ 标准误, 同一列不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($P < 0.05$, Tukey 多重比较检验); *表示两种生殖方式间差异显著 ($P < 0.05$, 独立样本 t 检验); CK 表示 F_1 代西花蓟马使用 0.025%吐温 - 80 进行处理; F_1 代-LT 表示 F_1 代西花蓟马使用渐狭蜡蚧菌处理; F_2 代-TT 和 F_3 代-TT 分别表示表示 F_2 代西花蓟马和 F_3 代西花蓟马使用 0.025%吐温 - 80 处理。下表同。

Data in the table are represented as mean $\pm$ SE. Different lowercase letters in the same column represent significant difference among different treatments ($P < 0.05$, Tukey's multiple range test); * indicates significant difference between two reproductive patterns ($P < 0.05$, independent-samples t -test). CK represents *F. occidentalis* of F_1 generation were treated with 0.025% Tween-80. LT of F_1 generation represents *F. occidentalis* of F_1 generation were treated with *L. attenuatum*, TT of F_2 generation and TT of F_3 generation represents *F. occidentalis* of F_2 generation and F_3 generation were treated with 0.025% Tween-80, respectively. The same below.

2.2.2 渐狭蜡蚧菌多次侵染对西花蓟马 *Vg* 含量的影响 不论是两性生殖还是孤雌生殖, 当连续使用渐狭蜡蚧菌处理西花蓟马后, *Vg* 含量在 F_1 和 F_2 代均显著高于对照组 (F_1 -两性生殖: $P < 0.05$; F_2 -两性生殖: $P < 0.05$; F_1 -孤雌生殖: $P < 0.05$; F_2 -孤雌生殖: $P < 0.001$), F_3 代雌成虫 *Vg* 含量均下降至对照水平 (两性生殖: $P > 0.05$; 孤雌生殖: $P > 0.05$), 分别为 6.69 和 $8.84 \mu\text{g}/\text{mg}$ 。

表 3 渐狭蜡蚧菌多次侵染对西花蓟马卵黄原蛋白含量的影响 (μg/mg)

Table 3 Effect of multiple infection of *Lecanicillium attenuatum* on Vg content of *Frankliniella occidentalis* (μg/mg)

处理 Treatment	两性生殖 Gamogenesis	孤雌生殖 Parthenogenesis
对照组 CK	7.02 ± 0.35 b*	5.66 ± 0.29 c
F ₁ 代-LT LT of F ₁ generation	13.99 ± 1.62 a	11.44 ± 1.04 ab
F ₂ 代-LT LT of F ₂ generation	12.17 ± 0.60 a	15.08 ± 1.21 a
F ₃ 代-LT LT of F ₃ generation	6.69 ± 0.28 b*	8.40 ± 0.55 bc

同一时间下, 两种生殖方式的西花蓟马 Vg 含量也不完全相同。在 F₁ 和 F₂ 代, 两种生殖方式下 Vg 含量均无显著差异 ($P > 0.05$)。但在 F₃ 代, 孤雌生殖的雌成虫 Vg 含量则高于两性生殖雌成虫 ($P < 0.05$)。

3 讨论

本研究结果表明, 西花蓟马 2 龄若虫感染渐狭蜡蚧菌后, 雌成虫体内 Vg 表达量和 Vg 含量都显著升高, 但变化趋势不尽相同。这一结果可能与昆虫体内卵黄原蛋白在昆虫的免疫应答反应中的作用相关 (Singh *et al.*, 2013; Salmela *et al.*, 2015; Awde *et al.*, 2020), 即为抵抗真菌感染所带来的不利影响, 西花蓟马雌成虫可通过上调 Vg 的表达和提高 Vg 含量的方式参与昆虫的免疫作用。徐燕霞 (2016) 分别对东亚飞蝗 *Locusta migratoria manilensis* 人工注射不同浓度的葡聚糖微珠 Sephadex G-50 及人工感染不同浓度的藤黄微球菌 *Micrococcus luteus*, 其体内卵黄原蛋白的表达和含量也明显上升。Ge 等 (2010) 和刘陈 (2017) 研究发现药剂对昆虫的 Vg 也有一定的影响, 如亚致死浓度 (LC₂₀) 的溴氰菊酯和吡虫啉能够刺激黑肩绿盲蝽 *Cyrtorhinus lividipennis* 和褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 雌成虫体内 Vg 的表达。

亚致死浓度的三唑磷处理大螟 *Sesamia inferens* 1 龄幼虫、白背飞虱 *Sogatella furcifera*

雌成虫, 也可显著提高其 Vg 的表达量 (杨国庆等, 2014; Zhou *et al.*, 2020a), 均与本实验结果一致。Hua 等 (2023) 发现西花蓟马 Vg 表达量和 Vg 含量在多杀菌素敏感品系比抗性品系低。低剂量的杀虫剂可通过刺激昆虫 Vg 的表达从而促进其生殖的作用机理 (Yu *et al.*, 2010; Rabhi *et al.*, 2014) 可用矫正过度控制理论 (Stebbing, 1987) 和过度补偿理论 (Calabreseci, 1999) 两种主导理论进行解释。渐狭蜡蚧菌侵染西花蓟马后, 刺激雌成虫 Vg 的表达和 Vg 含量显著上升的作用机理是否同样符合这种矫正或补偿机制需进一步探究。但也有不同结果的报道, 如康奎等 (2022) 研究发现, 褐飞虱感染了金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae* 后其体内 Vg 基因的表达量显著降低, 且降低程度与绿僵菌的感染时间有关。陈建新等 (2002) 研究也表明将蝗虫微孢子虫接种至东亚飞蝗后的 1-15 d 内 Vg 含量大大降低, 与本实验结果相反, 这可能是由于不同虫生真菌的作用机制不同。Huang 等 (2016) 研究发现二化螟 *Chilo suppressalis* 繁殖力降低与氯虫苯甲酰胺处理后 Vg 表达量的下调有关; Abbo 等 (2017) 发现细菌感染意大利蜜蜂 *Apis mellifera* 会导致其雌成虫体内 Vg 表达量降低。刘瑾林 (2020) 发现亚致死浓度的滨蒿内酯使朱砂叶螨 *Tetranychus cinnabarinus* 雌成虫体内 Vg 表达量显著下降。

本研究结果表明, 进行孤雌生殖的西花蓟马雌成虫第 3 天体内 Vg 含量明显低于两性生殖的雌成虫, 说明西花蓟马体内 Vg 的含量可能受生殖方式的影响。可能与两性生殖中交配能够刺激昆虫产卵有关。研究表明, 东亚飞蝗 (张欣杨等, 2010) 和西花蓟马 (袁成明等, 2010) 孤雌生殖的产卵量显著低于两性生殖。但徐川峰等 (2018) 发现在两性生殖和孤雌生殖下, 樟叶蜂 *Mesoneura rufonota* 雌虫产卵量并未出现任何差异。这可能是不同昆虫的繁殖力在两种生殖方式下的响应不同。鉴于卵黄原蛋白是评估雌性昆虫繁殖力的重要蛋白之一, 因此可推测西花蓟马雌成虫体内 Vg 在孤雌生殖和两性生殖的响应不同。

本研究明确了渐狭蜡蚧菌侵染对西花蓟马

Vg 表达量和 *Vg* 含量的影响。在渐狭蜡蚧菌单次侵染下, 无论是两性生殖还是孤雌生殖其 *Vg* 的表达量均是 F_2 代被明显诱导, 但在多次侵染下, *Vg* 的表达量在两种生殖方式下因世代而异。无论是单次侵染还是多次侵染, 也不论处于何种生殖方式下, 侵染均显著提升了 F_1 和 F_2 代西花蓟马的 *Vg* 含量, 而 F_3 代的 *Vg* 含量仅在单次侵染的孤雌生殖方式下才会出现明显上升。尽管渐狭蜡蚧菌侵染能够促进 *Vg* 的合成, 但课题组前期研究发现, 蜡蚧菌侵染会对西花蓟马的卵巢发育以及卵子的产出产生不利影响, 同时还会导致西花蓟马较高的死亡率。因此, 蜡蚧菌对西花蓟马种群的综合效应仍有待深入和系统的研究。在实际应用中, 需通过长期实验来评估其防控效果, 进而制定科学有效的生物防治策略。

参考文献 (References)

- Abbo PM, Kawasaki JK, Hamilton M, Cook SC, DeGrandi-Hoffman G, Li WF, Liu J, Chen YP, 2017. Effects of imidacloprid and *Varroa destructor* on survival and health of European honey bees, *Apis mellifera*. *Insect Science*, 24(3): 467–477.
- Abd-El-Halim AM, Hoogstrate SW, Schuurink RC, 2018. A robust functional genomics approach to identify effector genes required for thrips (*Frankliniella occidentalis*) reproductive performance on tomato leaf discs. *Frontiers in Plant Science*, 9: 1852.
- Awde DN, Skandalis A, Richards MH, 2020. Vitellogenin expression corresponds with reproductive status and caste in a primitively eusocial bee. *Journal of Insect Physiology*, 127: 104113.
- Calabrese EJ, 1999. Evidence that hormesis represents an “overcompensation” response to a disruption in homeostasis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 42(2): 135–137.
- Chen JX, Shen J, Song DL, Zhang L, Yan YH, 2002. Effect of *Nosema locustae* on the content of vitellogenin of *Locusta migratoria manilensis*. *Acta Entomologica Sinica*, 45(2): 170–174. [陈建新, 沈杰, 宋敦伦, 张龙, 严毓骅, 2002. 蝗虫微孢子虫对东亚飞蝗卵黄原蛋白含量的影响. 昆虫学报, 45(2): 170–174.]
- Fan ZF, Chen YP, Li BL, Gou DY, He SQ, Gui FR, 2022. Effects of flupyradifurone on the activities of protective and detoxifying enzymes in western flower thrips *Frankliniella occidentalis* under elevated CO_2 concentration. *Journal of Plant Protection*, 49(4): 1225–1232. [樊宗芳, 陈亚平, 李碧兰, 勾德映, 和淑琪, 桂富荣, 2022. CO_2 浓度倍增下氟吡呋喃酮对西花蓟马保护酶和解毒酶活性的影响. 植物保护学报, 49(4): 1225–1232.]
- Gao YL, Lei ZR, Reitz SR, 2012. Western flower thrips resistance to insecticides: Detection, mechanisms and management strategies. *Pest Management Science*, 68(8): 1111–1121.
- Ge LQ, Wang LP, Zhao KF, Wu JC, Huang LJ, 2010. Mating pair combinations of insecticide-treated male and female *Nilaparvata lugens* Stål (Hemiptera: Delphacidae) planthoppers influence protein content in the male accessory glands (MAGs) and vitellin content in both fat bodies and ovaries of adult females. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 98(2): 279–288.
- Hua DK, Li XY, Yuan JJ, Tao M, Zhang K, Zheng XB, Wan YR, Gui LY, Zhang YJ, Wu QJ, 2023. Fitness cost of spinosad resistance related to vitellogenin in *Frankliniella occidentalis* (Pergande). *Pest Management Science*, 79(2): 771–780.
- Huang L, Lu MX, Han GJ, Du YZ, Wang JJ, 2016. Sublethal effects of chlorantraniliprole on development, reproduction and vitellogenin gene (*CsVg*) expression in the rice stem borer, *Chilo suppressalis*. *Pest Management Science*, 72(12): 2280–2286.
- Kang K, Cai YJ, Gong J, Zhang DW, 2022. Effects of *Metarhizium anisopliae* on the fecundity of *Nilaparvata lugens*. *Chinese Journal of Biological Control*, 38(1): 180–187. [康奎, 蔡尤俊, 龚俊, 张道伟, 2022. 金龟子绿僵菌对褐飞虱繁殖力的影响. 中国生物防治学报, 38(1): 180–187.]
- Kim JJ, Goettel MS, Gillespie DR, 2010. Evaluation of *Lecanicillium longisporum*, Vertalec® against the cotton aphid, *Aphis gossypii*, and cucumber powdery mildew, *Sphaerotheca fuliginea* in a greenhouse environment. *Crop Protection*, 29(6): 540–544.
- Li JP, Deng H, Qin YM, Zheng TY, Ouyang XH, 2022. Research progress of insect vitellogenin. *Biotechnology*, 32(1): 114–119. [李佳鹏, 邓红, 覃勇梅, 郑天宇, 欧阳霞辉, 2022. 昆虫卵黄原蛋白的研究进展. 生物技术, 32(1): 114–119.]
- Liu C, 2017. The effects of foods and insecticides on the growth, development and reproduction of *Cyrtorhinus lividipennis*. Master dissertation. Yangzhou: Yangzhou University. [刘陈, 2017. 食物和杀虫剂对黑肩绿盲蝽生长、发育和生殖的影响. 硕士学位论文. 扬州: 扬州大学.]
- Liu JL, 2020. Effects of scoparone on the fecundity and the expression of vitellogenin 5 and vitellogenin 6 genes of *Tetranychus cinnabarinus*. Master dissertation. Chongqing: Southwest University. [刘瑾林, 2020. 滨蒿内酯对朱砂叶螨生殖力及卵黄原蛋白 *Tcvg5*、*Tcvg6* 基因表达的影响研究. 硕士学位论文. 重庆: 西南大学.]
- Livak KJ, Schmittgen TD, 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. *Methods*, 25(4): 402–408.
- Qian L, Huang ZJ, Liu XW, Li CX, Gao YL, Gui FR, Chang XL, Chen FJ, 2021. Effect of elevated CO_2 on interactions between the host plant *Phaseolus vulgaris* and the invasive western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Journal of Pest Science*, 94(1): 43–54.
- Rabhi KK, Esancy K, Voisin A, Crespin L, Le Corre J, Tricoire-Leignel H, Anton S, Gadenne C, 2014. Unexpected effects

- of low doses of a neonicotinoid insecticide on behavioral responses to sex pheromone in a pest insect. *PLoS ONE*, 9(12): e114411.
- Salmela H, Amdam GV, Freitak D, 2015. Transfer of immunity from mother to offspring is mediated via egg-yolk protein vitellogenin. *PLoS Pathogens*, 11(7): e1005015.
- Singh NK, Pakkianathan BC, Kumar M, Prasad T, Kannan MN, König S, Krishnan M, 2013. Vitellogenin from the silkworm, *Bombyx mori*: An effective anti-bacterial agent. *PLoS ONE*, 8(9): e73005.
- Stebbing AR, 1987. Growth hormesis: A by-product of control. *Health Physics*, 52(5): 543–547.
- Wang JM, 2012. Bionomics and control of potted ficus thrips. Master dissertation. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University. [王小明, 2012. 盆栽榕树蓟马的生物学及防治技术研究. 硕士学位论文. 福州: 福建农林大学.]
- Wang SS, 2021. Function analysis and juvenile hormone regulation of vitellogenin and vitellogenin receptor in *Liposcelis entomophila*. Master dissertation. Zhengzhou: Henan Technology University. [王随随, 2021. 嗜虫书虱卵黄蛋白及其受体基因的功能分析和保幼激素调控作用. 硕士学位论文. 郑州: 河南工业大学.]
- Wu SY, Gao YL, Xu XN, Goettel MS, Lei ZR, 2015. Compatibility of *Beauveria bassiana* with *Neoseiulus barkeri* for control of *Frankliniella occidentalis*. *Journal of Integrative Agriculture*, 14(1): 98–105.
- Xie W, 2022. Infection and reproductive effects of *Lecanicillium attenuatum* on *Frankliniella occidentalis*. Master dissertation. Guizhou: Guizhou University. [谢文, 2022. 渐狭蜡蚧菌对西花蓟马的侵染及对生殖的影响. 硕士学位论文. 贵阳: 贵州大学.]
- Xie W, Zhi JR, Zhou YM, 2020. Research and application progress of *Lecanicillium* spp. in biological control of small insect pests. *China Plant Protection*, 40(7): 31–37. [谢文, 邹军锐, 周叶鸣, 2020. 蜡蚧菌防治小型害虫研究与应用进展. 中国植保导刊, 40(7): 31–37.]
- Xie W, Zhou YM, Yue WB, Zhang Y, Zhi JR, 2024. *Lecanicillium attenuatum* infection and effects on the reproduction of *Frankliniella occidentalis*. *Biocontrol Science and Technology*, 34(11): 1006–1019.
- Xu CF, Shi HN, Yin LX, Zhou JY, Liu XP, 2018. Comparison of female reproductive fitness and offspring life history traits between gamogenesis and parthenogenesis in the camphor sawfly, *Mesoneura rufonota* (Hymenoptera: Tenthredinidae). *Acta Entomologica Sinica*, 61(12): 1421–1429. [徐川峰, 石昊妮, 殷立新, 周嘉颖, 刘兴平, 2018. 樟叶蜂两性生殖与孤雌生殖方式下雌虫生殖适合度及子代生活史特征的比较. 昆虫学报, 61(12): 1421–1429.]
- Xu YX, 2016. Effects of immune challenge *Locusta migratoria manilensis* vitellogenin occurred. Master dissertation. Hangzhou: Hangzhou Normal University. [徐燕霞, 2016. 免疫挑战对东亚飞蝗卵黄蛋白发生的影响. 硕士学位论文. 杭州: 杭州师范大学.]
- Yang GQ, Li L, Ge LQ, Wu JC, 2014. Effects of sublethal doses of triazophos and chlorpyrifos on the population growth and yolk protein content of *Sesamia inferens* (Walker). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 51(6): 1582–1588. [杨国庆, 李丽, 戈林泉, 吴进才, 2014. 三唑磷和毒死蜱亚致死剂量对大螟种群增长和卵黄蛋白含量的影响. 应用昆虫学报, 51(6): 1582–1588.]
- Yu YS, Shen GQ, Zhu HL, Lu YT, 2010. Imidacloprid-induced hormesis on the fecundity and juvenile hormone levels of the green peach aphid *Myzus persicae* (Sulzer). *Pesticide Biochemistry Physiology*, 98(2): 238–242.
- Yuan CM, Zhi JR, Ma H, Cao Y, 2010. Study on fecundity of *Frankliniella occidentalis* under different reproductive patterns. *Guizhou Agricultural Sciences*, 38(1): 74–76. [袁成明, 邹军锐, 马恒, 曹宇, 2010. 不同生殖方式下西花蓟马的繁殖力研究. 贵州农业科学, 38(1): 74–76.]
- Yuan JW, Qin J, Wei R, Xie HF, Du YZ, 2021. Transcriptome analysis of responses of western flower thrips *Frankliniella occidentalis* to high and low temperature stresses. *Journal of Plant Protection*, 48(6): 1400–1410. [袁嘉雯, 秦晶, 魏然, 谢洪芳, 杜予州, 2021. 西花蓟马对高低温胁迫响应的转录组分析. 植物保护学报, 48(6): 1400–1410.]
- Zhang ZR, Zhang YJ, Xie M, 2015. Identification and biological characteristics of a *Lecanicillium* isolate originating from tropic region and its pathogenicity against *Bemisia tabaci*. *Chinese Journal of Biological Control*, 31(1): 64–70. [张召荣, 张艳军, 谢明, 2015. 一株来自热带地区蜡蚧菌的鉴定、生物学特性及其对烟粉虱的致病力. 中国生物防治学报, 31(1): 64–70.]
- Zhang XY, Li Y, Yang TX, Zhang L, 2010. Comparison of capacity of parthenogenetic and bisexual reproduction in the oriental migratory *Locusta migratoria manilensis*. *Journal of Beijing University of Agriculture*, 25(1): 27–29. [张欣杨, 李杨, 杨天翔, 张龙, 2010. 东亚飞蝗孤雌生殖与两性生殖特性的比较. 北京农学院学报, 25(1): 27–29.]
- Zhang YJ, Wu QJ, Xu BY, Zhu GR, 2003. Hazardous alien invasive species-*Frankliniella occidentalis* in Beijing. *Plant Protection*, 29(4): 58–59. [张友军, 吴青君, 徐宝云, 朱国仁, 2003. 危险性外来入侵生物——西花蓟马在北京发生危害. 植物保护, 29(4): 58–59.]
- Zheng YT, Li HB, Lu MX, Du YZ, 2014. Evaluation and validation of reference genes for qRT-PCR normalization in *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). *PLoS ONE*, 9(10): e111369.
- Zhou C, Yang XB, Yang H, Long GY, Jin DC, 2020a. Effects of sublethal concentrations of insecticides on the fecundity of *Sogatella furcifera* (Hemiptera: Delphacidae) via the regulation of vitellogenin and its receptor. *Journal of Insect Science*, 20(5): 14.
- Zhou YM, Zou X, Zhi JR, Xie JQ, Jiang T, 2020b. Fast recognition of *Lecanicillium* spp., and its virulence against *Frankliniella occidentalis*. *Frontiers in Microbiology*, 11: 561381.