

用松褐天牛幼虫培育的川硬皮肿腿蜂 种群寄主选择性变化

张 犀, 周祖基*, 杨春平, 周宇燊, 胡 霞

(四川农业大学林学院, 四川 雅安 625001)

摘要:在小试管和马尾松木段内,用松褐天牛幼虫分别培育川硬皮肿腿蜂。采用 Y 型嗅觉仪测定培育后各代川硬皮肿腿蜂对松褐天牛的选择性的变化,结果表明,经过培育,各代川硬皮肿腿蜂对松褐天牛幼虫的选择性有不同程度提高。本研究还利用扫描电镜对培育后各代川硬皮肿腿蜂的触角感觉器超微形态进行了观察,发现肿腿蜂触角上的板状感器和坛状感器的形状和数量在不同代间有明显的变化。

关键词:松褐天牛;川硬皮肿腿蜂;寄主搜寻能力;触角感器

中图分类号:S763.3

文献标识码:A

Host-selectivity of *Sclerodermus sichuanensis* Reared by *Monochamus alternatus* Larvae

ZHANG Xi, ZHOU Zu-ji, YANG Chun-ping, ZHOU Yu-jue, HU Xia

(College of Forestry, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625001, Sichuan, China)

Abstract: Reared by *Monochamus alternatus* larvae in small test tube and twigs of *Pinus massoniana*, the host-selectivity of several generations of *Sclerodermus sichuanensis* was studied. The Y-tube olfactometer and scanning electron microscope were used to detect the diversification of the host-selectivity. The results showed that the host-selectivity of reared generations could be improved with varying degrees. The antennal sensilla of *Sclerodermus sichuanensis* was observed through electron microscope, which showed that the ultrastructure of sensilla placoclea and sensilla ampullaceal of some adults were deformed.

Key word: *Monochamus alternatus*; *Sclerodermus sichuanensis*; host-selectivity; antennal sensilla

昆虫的感器,是昆虫体壁的皮细胞所演变而成,是对周围环境和内部各种刺激产生反应的重要结构,它们和神经系统一起,控制和调节昆虫的行为,触角是各种感器最为富集的器官之一。Rust等^[1]研究发现,若切除蟑螂(*Blatta* sp.)触角,本来朝引诱物质爬行的蟑螂只能原地转动。其他一些研究也发现,昆虫的嗅觉、味觉、对温度的感觉以及对机械力和振动的感觉等大部分感受功能,都是由触角所担

负的。对寄生性天敌昆虫来说,其搜寻适合的寄主,主要依靠其触角上各种感器对寄主信息的感觉。

松褐天牛 *Monochamus alternatus* Hope 是松树(*Pinus* spp.)主要害虫之一,不仅蛀食松树,且为“松树癌症”——松材线虫 *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhner) 的主要传播媒介^[2-3],引起松树大规模死亡。防治松褐天牛是阻断松材线虫传播,控制松材线虫病的有效途径之一。

收稿日期:2009-10-20

基金项目:国家级星火计划项目(2004EA810009);四川省生态林业工程省级重点学科建设项目;四川省教育厅重大培育项目:川硬皮肿腿蜂驯化与改良(07ZZ022)

作者简介:张 犀(1981—),男,四川资中人,博士,研究方向:森林生产力维护与提高。E-mail:zhangxi19811121@163.com

* 通讯作者:周祖基,教授,四川农业大学林学院森林保护实验室。E-mail:zujizhou@yahoo.com

川硬皮肿腿蜂 *Sclerodermus sichuanensis* Xiao 于四川泸县发现,为外寄生蜂种,是控制双条杉天牛 *Semanotus sinoauster* Gressitt、粗鞘双条杉天牛 *Semanotus sionanster* Gressitt、杉棕天牛 *Callidium villosulum* Fairmaire、花椒虎天牛 *Clytus validus* Fairmaire 等钻蛀性害虫的优良天敌。对川硬皮肿腿蜂形态学、生物学、环境适应性、人工繁殖技术及林间放蜂防治效果的研究表明,川硬皮肿腿蜂寄主范围广,搜索、攻击能力强,寄生率高,发育周期短,繁殖力强,目前已成功地实现利用中间寄主大规模繁殖,初步具有了规模化生产的能力^[4],并展开了一系列防治试验和应用研究。

但是由于松褐天牛非川硬皮肿腿蜂原生寄主,又经过长期的人工繁育,导致川硬皮肿腿蜂对目标寄主松褐天牛的选择性不强,在林间防治松褐天牛的效果不够理想。本实验用松褐天牛幼虫,采取不同的方法对川硬皮肿腿蜂进行培育,并对培育后的川硬皮肿腿蜂对松褐天牛幼虫的选择性变化以及触角感器进行观察,其结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

川硬皮肿腿蜂来自四川农业大学林学院川硬皮肿腿蜂规模化人工繁殖基地,松褐天牛幼虫采自四川省自贡市富顺县青山岭林场,马尾松木段采自四川省自贡市富顺县青山岭林场。

1.2 松褐天牛的采集与饲养

在松褐天牛幼虫越冬期在林间采集幼虫,装于小试管内带回。选取新鲜、无病虫害的马尾松枝杆($\Phi=5$ cm),锯成 10 cm 长小段,消毒后用石蜡封闭切面(利于保持水份),以刻刀轻轻拨开树皮,于木质部刻出与松褐天牛幼虫体型大小相近的凹槽,将松褐天牛幼虫放于槽中(1 头·段⁻¹),盖回树皮,用透明胶封好树皮,放于泡沫盒内(70 cm×40 cm×30 cm),加水保湿,备用。

1.3 用松褐天牛幼虫培育川硬皮肿腿蜂

1.3.1 马尾松木段内培育川硬皮肿腿蜂 于白色塑料盒(30 cm×20 cm×15 cm)内放入 5 段接有松褐天牛幼虫(4~5 龄)^[5]的马尾松木段,将以黄粉甲(*Tenebrio molitor* Linnaeus)培育 55 代的川硬皮肿腿蜂(以后统称为 F_0 代蜂)放入盒内(肿腿蜂:松褐天牛幼虫=4:1),盖好塑料盒。肿腿蜂在实验环境(24℃,RH 75%)下自行搜索天牛,设 6 个重复(总

计使用松褐天牛幼虫 30 头、川硬皮肿腿蜂 120 头)。

把 F_0 代蜂其寄生松褐天牛后所产子代蜂定名为 F_1 代蜂,以相同的方法继续培育 F_1 代蜂,其子代蜂为 F_2 代蜂,连续培育 3 代,第三代为 F_3 代蜂,记录各代搜寻能力。

1.3.2 小试管内培育川硬皮肿腿蜂 于小试管(直径 1.1 cm,长度 4.5 cm)内放入松褐天牛幼虫 1 头,将 F_0 代蜂接入小试管内(肿腿蜂:松褐天牛幼虫=4:1),用棉塞塞好管口。肿腿蜂在实验环境下(24℃,RH 75%)寄生天牛繁育后代,重复 30 次(总计使用松褐天牛幼虫 30 头、川硬皮肿腿蜂 120 头)。

把 F_0 代蜂寄生松褐天牛后所产子代蜂定名为 F'_1 代蜂,以相同的方法继续培育 F'_1 代蜂,其子代蜂为 F'_2 代蜂,连续培育 3 代,第三代为 F'_3 代蜂。

1.4 各代川硬皮肿腿蜂寄主选择性生测

在实验环境温度为 25 ± 1 ℃ 条件下;用 Y 型嗅觉仪分别测定 F_0 代、 F_1 代、 F_2 代、 F_3 代、 F'_1 代、 F'_2 代、 F'_3 代的川硬皮肿腿蜂对松褐天牛敏感程度,各测定 60 次。Y 型嗅觉仪长臂 10 cm,两侧臂 5 cm,侧臂间夹角 75°,长臂和侧臂内部直径均为 1 cm,空气流速为 $0.5 \sim 0.6$ cm·s⁻¹,测定时间 08:00~12:00,测定温度 25 ± 1 ℃。测定时川硬皮肿腿蜂由 Y 型管长臂管口引入,爬过长臂 2 cm 后开始计时,肿腿蜂于 Y 型管分叉处做出选择,每个肿腿蜂观察 5 min,爬过侧臂 3 cm 并且停留 1 min 以上则记为对松褐天牛有正趋性选择,否则即为无选择。

生测实验处理,信息源 1:松褐天牛信息物(1 头松褐天牛幼虫+少量虫粪);信息源 2:空白(经 Y 型嗅觉仪过滤的空气)。

另外用 Y 型嗅觉仪在 F_0 代蜂中选取 20 头在有马尾松气味干扰下,能够搜寻到松褐天牛幼虫的川硬皮肿腿蜂,作为触角感器观察材料(以后统称 F'_0 代蜂)。

其处理为,信息源 1:松褐天牛信息物+马尾松;信息源 2:空白。

1.5 触角超微结构观察

取体形完整的 F_0 代、 F'_0 、 F_1 代、 F_2 代、 F_3 代、 F'_1 代、 F'_2 代、 F'_3 代川硬皮肿腿蜂无翅雌蜂各 20 头,经过清洗→固定→冲洗→脱水→置换→临界点干燥后,在解剖镜下,用解剖针把其触角和身体分离开,用导电胶将触角粘在样品座上,离子溅射镀膜后,使用 KYKY1000B 扫描电镜对其感器进行观察并拍照。

1.6 数据处理和分析

用 X^2 检验和 F 检验,分析比较各处理的差异。

以上数据分析用统计软件 SPSS 进行。数值采用平均值 $\pm SD$ 表示。差异显著水平 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 培育后川硬皮肿腿蜂的生测

X^2 检验表明(图 1), F_0 代蜂对松褐天牛信息物

无显著的选择性,在木段内用松褐天牛幼虫培育的 F_1 代、 F_2 代、 F_3 代蜂,对松褐天牛信息物表现出显著的选择性,而在小试管内用松褐天牛幼虫培育的 F'_1 代、 F'_2 代、 F'_3 代蜂,同样表现出显著的选择性。

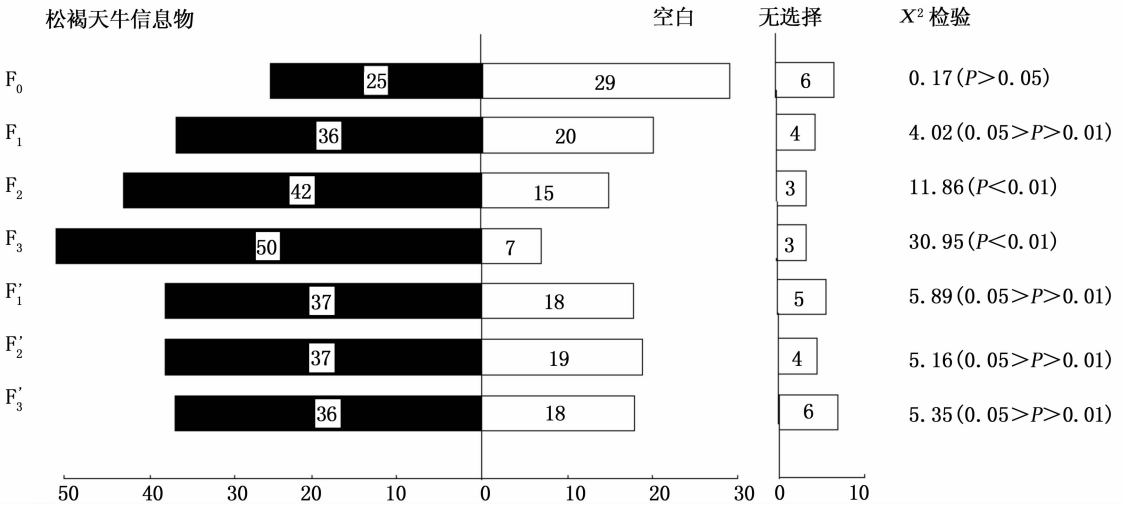
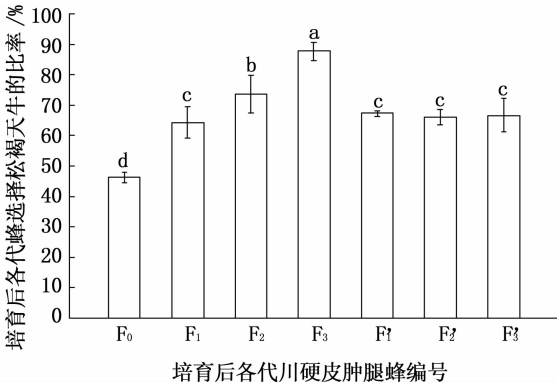


图 1 培育后的川硬皮肿腿蜂对松褐天牛的选择情况

从木段内培育的各代蜂选择天牛比率的方差分析结果可知(图 2),木段内培育的 F_1 代、 F_2 代、 F_3 代蜂,对松褐天牛的选择性明显高于 F_0 代蜂,并存在显著差异,同时随着培育的深化,对松褐天牛的选择性也显著提高,每代间也存在显著的差异。



选择天牛的肿腿蜂比率 = 选择天牛的肿腿蜂数 / (选择天牛的肿腿蜂数 + 选择空白的肿腿蜂数)

图中不同字母表示经方差分析(F 检验)

不同处理间在 $\alpha = 0.05$ 水平上差异显著。

图 2 培育后的川硬皮肿腿蜂选择天牛比率的方差分析

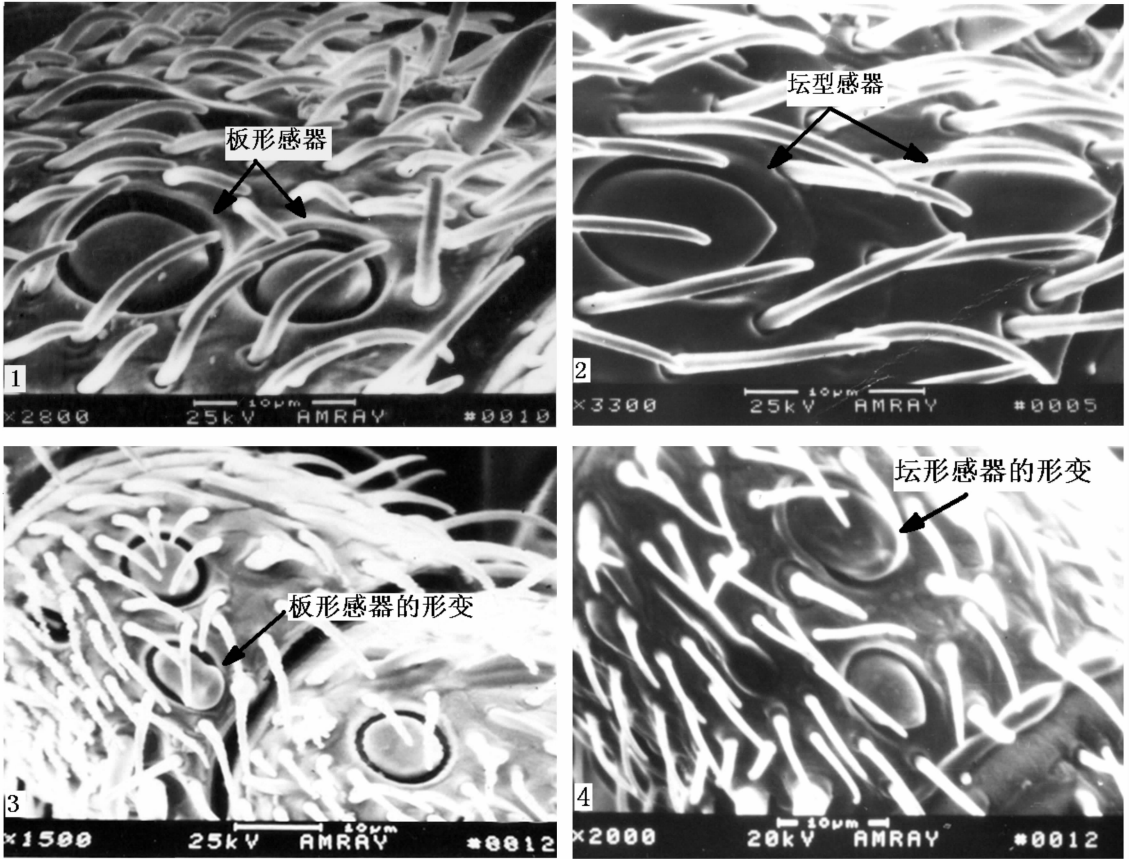
而在小试管内培育的各代蜂选择天牛比率的方差分析结果可知(图 2),小试管内培育的 F'_1 代、 F'_2 代、 F'_3 代蜂,对松褐天牛的选择性也高于 F_0 代蜂,并存在显著差异,但是随着培育的深化,从第 2 代起,对松褐天牛的选择性没有继续提高,每代间不存在显著的差异。

2.2 用各代川硬皮肿腿蜂的触角感器观察

实验中对 F_0 代、 F'_0 代、 F_1 代、 F_2 代、 F_3 代、 F'_1 代、 F'_2 代、 F'_3 代无翅雌蜂触角进行超微结构观察,共计观察到 15 种触角感器,其名称分别为:毛形感器 I 型(TS I)、毛形感器 II 型(TS II)、毛形感器 III 型(TS III)^[6-7]、刺形感器(CS)^[8-10]、锥形感器(BS)、栓锥形感器 I 型(SCS I)、栓锥形感器 II 型(SCS II)^[11]、钟形感器(CFS)^[12-13]、边缘感器(MS)^[14-15]、板形感器(PS)^[8]、坛形感器(ALS)^[8]、鳞形感器(SS)、长锥形感器(LBS)、柱形感器 I 型(CLS I)、柱形感器 II 型(CLS II)。除板形感器与坛形感器外,其他 13 种触角感器,在外部形状特征,分布位置以及数量上均与胡霞^[16]对川硬皮肿腿蜂的触角感器观察的结果相同。

但在观察中发现部分肿腿蜂的板形感器(着生在盘状凹陷内,呈圆盘状,周围有一较宽的边,上有许多辐射状沟伸到盘中央;如图 3-1)与坛型感器(整个感器呈锥状突起,尖部偏向触角前端,着生于坛形穴中,端部微突;鞭节第 7 到第 12 亚节腹面上均有分布,如图 3-2),在形状上发生了变化,其表现

为:板形感器整体膨大,溢出盘状凹巢,并向触角端部方向扩张出一个耳状的附加结构(图 3-3);坛形感器端部微突处变成钝圆形,整个感器由原来的锥状变成不规则的椭圆形,部分坛形向触角端部方向也扩张出一个耳状的附加结构(图 3-4)。



板型感器(3-1) × 2 800;坛型感器(3-2) × 3 300;形变后的板形感器(3-3) × 1 500;形变后的坛形感器(3-4) × 2 000

图3 川硬皮肿腿蜂触角感器电镜扫描图片

由于在前处理时,部分触角被损坏,观察中并没有对所有触角进行,只对完整触角进行了观察,所以在表 1 中显示,各代蜂被观察的触角数有所不同。由表 1 可知,板形感器和坛型感器的这种形变现象,在用木段培育的 F_1 代、 F_2 代、 F_3 代肿腿蜂触角上分布较多,并随着培育程度的深化,带有变形感器的触角数量也随之增多。另外在用 Y 型嗅觉仪筛选的 F_0 代肿腿蜂触角上也有一定的分布。而在 F_0 代肿腿蜂触角上未出现感器形变现象,在小试管培育的肿腿蜂,除 F_2' 代,有 2 条感器上带有形变感器外,其他各代蜂皆未观察到感器形变现象。

表 1 川硬皮肿腿蜂触角感器变化情况

培育程度	观察触角数量	带有形变感器触角数	带有形变感器触角数所占比率/%
F_0	35	0	0.00
F_0'	35	8	0.23
F_1	31	11	0.35
F_2	34	27	0.76
F_3	30	28	0.93
F_1'	33	0	0.00
F_2'	37	2	0.54
F_3'	31	0	0.00

3 讨论

3.1 培育后川硬皮肿腿蜂的搜寻能力

寄生蜂对寄主的搜索过程可分为寄主群落定

位—寄主微生物定位—微生物接受—寄主定位—寄主接受等5个步骤^[17]。川硬皮肿腿蜂的原生寄主非松褐天牛,并经过长期室内培养,以黄粉甲做替代寄主,没有接触过松褐天牛信息,同时马尾松松针、松枝皮、松节油的挥发物对川硬皮肿腿蜂有较强的驱避性^[18],以致不能对松褐天牛本身信息,及其生存环境信息准确定位,可能导致在松褐天牛的防治过程中效果不佳。Y型嗅觉仪测定结果显示用黄粉虫繁育多代的F₀代蜂对松褐天牛幼虫不存在显著的选择性,其原因在于其对松褐天牛信息不敏感,影响了川硬皮肿腿蜂对松褐天牛的定位,从而不能有效找到目标寄主。

实验中,通过在马尾松木段内对川硬皮肿腿蜂多代培育,极大地提高了川硬皮肿腿蜂对松褐天牛幼虫的选择性,Y型嗅觉仪测定结果显示其对松褐天牛幼虫表现出显著选择性,且每代都比其上一代有显著提高。出现这种结果的原因有两点:(1)实验设计中采用选择性寄生方法,把川硬皮肿腿蜂放于较宽松环境,其可选择寄生木段内松褐天牛,也可不选择寄生最终饿死,甚至可选择逃离此环境。实验中亦发现川硬皮肿腿蜂饿死于盒内及逃出盒外的现象。每次培育均是川硬皮肿腿蜂的种蜂进行了一次选择,淘汰其中不能适应此环境及不能搜寻到松褐天牛的个体,从而达到提高其子代对松褐天牛幼虫定位能力的目的;(2)成虫早期的短暂经历,即“羽化条件作用”^[19]可对其随后的行为反应产生显著的影响。川硬皮肿腿蜂在羽化期及成虫初期有较强的学习能力^[20]。实验中,对川硬皮肿腿蜂的培育是在松褐天牛幼虫的蛀道内进行的,蛀道内有大量松褐天牛相关的信息,如幼蜂取食后的松褐天牛残渣、松褐天牛虫粪以及粘有松褐天牛体液的木屑。川硬皮肿腿蜂在羽化初期能接受松褐天牛信号的刺激,提高了肿腿蜂对松褐天牛幼虫定位能力。

另外在小试管内培育的川硬皮肿腿蜂,Y型嗅觉仪测定结果也显示,其对松褐天牛幼虫有显著选择性,且显著高于未经培育的川硬皮肿腿蜂,但其对松褐天牛的选择性并没有随着培育的深化而提高。小试管是一个较为封闭的空间,川硬皮肿腿蜂被迫寄生松褐天牛,没有经历选择过程。其对松褐天牛所表现出的显著性,仅为其在羽化初期对小试管内松褐天牛残留信息物的学习行为的结果,但这种学习行为是可逆的,不能长期保存,也不可以遗传给子代。谢正华^[21]在用马尾松挥发物连续多代驯化

川硬皮肿腿蜂实验中所得出的结果可知,川硬皮肿腿蜂在羽化初期,通过对马尾松挥发物的学习行为,有效地降低了其对马尾松挥发物的趋避性,但并没有随驯化的深入而产生更进一步的变化。

3.2 培育后川硬皮肿腿蜂触角感器的观察

川硬皮肿腿蜂依靠触角感受环境信息和寄主信息,搜索寄主。实验中对F₀代、F₀'代、F₁代、F₂代、F₃代、F₁'代、F₂'代、F₃'代无翅雌蜂触角进行超微结构观察,共计观察到15种感器。其中部分川硬皮肿腿蜂的板形感器和坛形感器在形状上发生了一定的变化。这种变化主要出现在F₁代、F₂代、F₃代以及F₀'代川硬皮肿腿蜂的触角上。

在F₀'代蜂触角上观察到板形感器和坛形感器形变的现象,在F₀代没有观察到。由此说明,在人工繁育的川硬皮肿腿蜂种群内,本来就存在带有这两种特异性触角感器的个体,只是数量较少,通过Y型嗅觉仪的筛选,增大了观察到这两种特异性触角感器的机率。寄生蜂在长期人工培养的过程中,易造成遗传分化。杨伟^[20]发现,长期人工繁殖的川硬皮肿腿蜂,其主要性状出现明显的变异分化,尤其是体长、腹长和头胸颜色变异明显,使肿腿蜂在外部形态上出现多样性,肿腿蜂种群已出现4种分化类型,各类型的生活力和繁殖力也存在差异。这两种特异性触角感器的出现,也可能是遗传分化的结果。

在木段内培育的F₁代、F₂代、F₃代川硬皮肿腿蜂,伴随着培育的深化,带有这两种特异性触角感器的川硬皮肿腿蜂随之增加,对松褐天牛选择性也随之增强。而在小试管内培育的F₁'代、F₂'代、F₃'代川硬皮肿腿蜂,仅在F₂'代发现2条带有这两种特异性触角感器的触角,其对松褐天牛的选择性虽比培育前有所提高,但并无随着培育的深化而增强。由此推断,带有这两种特异性触角感器的肿腿蜂对寄主的选择性要强于普通的肿腿蜂,其原因可能是,板形感器具有嗅觉功能,坛形感器对气味、二氧化碳和温湿度敏感,两者的扩展会增加感器与环境的接触面积,提高肿腿蜂对气味和环境的辨别能力,达到提高其对寄主选择性的效果。在木段培育实验中,采取选择寄生的方法,对种蜂进行了筛选,每一代都淘汰了部分搜寻能力较弱的个体,促使了带有特异性触角感器个体能够更好地繁育后代;而在小试管培育实验中,则是采用强迫寄生的方法,没有对种蜂进行选择,其每一代对松褐天牛的显著选择性,仅为羽化初期学习行为的结果。

寄生蜂的遗传变异的研究,为改良蜂种及其品系提供基础,关于肿腿蜂的遗传分化和育种研究尚未见报道^[22]。本研究的结论可获得一种新的,即通过触角感器识别技术进行良种选育方法的可行性。但在实验中未比较用松褐天牛培育后的川硬皮肿腿蜂,对松褐天牛来源的信息化合物与其繁蜂替代寄主黄粉甲及其他种类天牛的气味化合物之间的选择性差异,另外关于川硬皮肿腿蜂触角感器变化与寄主的何种化学信息(成分)相关,在实验中也未涉及,尚待进一步研究。

参考文献:

- [1] Rust M K. Pheromone-smulated locomotory and orientation responses in the American cockroach[J]. *Animal Behavior*,1976,24(1):52-67
- [2] 陈京元. 松褐天牛林间监测技术的初步研究[J]. *华中农业大学学报*,2003,22(1):27-29
- [3] 赵锦年. 松墨天牛成虫羽化逸出及其携带松材线虫能力的研究[J]. *林业科学研究*,1999,12(6):572-576
- [4] 周祖基. 川硬皮肿腿蜂生物学特性的研究(膜翅目:肿腿蜂科)[J]. *林业科学*,1997,33(5):475-479
- [5] 柳建定,李百万. 松褐天牛龄级划分方法初探[J]. *浙江林业科技*,2008,28(4):84-86
- [6] 吴才宏. 棉铃虫雄蛾触角的毛形感器对其性信息素组分及类似物的反应[J]. *昆虫学报*,1993,36(4):385-388
- [7] 高其康. 野蚕黑卵蜂触角感器的超微结构研究[J]. *浙江农业大学学报*,1993,19(4):399-404
- [8] 马瑞燕. 昆虫的触角感器[J]. *昆虫知识*,2000,37(3):179-183
- [9] 尹 姣. 草地螟触角化学感受器的电镜观察[J]. *昆虫知识*,2004,41(1):56-59
- [10] 杜芝兰. 中华蜜蜂工蜂触角感受器的扫描电镜观察[J]. *昆虫学报*,1989,32(2):166-169
- [11] Cupters P L. A comparative electron microscopic on antennae of small ermine moths[D]. Ph. D. Dissertations, Sweden,1983
- [12] Agren L. Flagellar sensilla of two species of *Andrena* (Hymenoptera: Andrenidea)[J]. *IM J Insect Morphol & Embryol*,1978,7(1):73-79
- [13] Yokohari F. The coelocapitular sensillum, an antennal hygro and Thermoreceptive sensillum of the honey bee, *Apis mellifera* L. [J]. *Cell and Tissue Res*,1983,233(2):355-365
- [14] Schaller D. Antennal sensory system of *Periplaneta americana* L. [J]. *Cell and Tissue Res*,1978,191(1):121-139
- [15] Toh Y. Fine structure of antennal sense organs of male cockroach, *Periplaneta americana*[J]. *J Ultrastruct Res*,1977,60:373-394
- [16] 胡 霞,周祖基. 川硬皮肿腿蜂雌蜂触角超微结构观察[J]. *辽宁林业科技*,2006,2:4-7
- [17] 刘树生,江丽辉,李月红. 寄生蜂成虫在寄主搜索过程中的学习行为[J]. *昆虫学报*,2003,46(2):228-236
- [18] 杨 伟. 用替代寄主繁殖的川硬皮肿腿蜂的学习行为[J]. *昆虫学报*,2005,48(5):731-735
- [19] Storeck A, Poppy G M, van Emden H F, et al. The role of plant chemical cues in determining host preference in the generalist aphid parasitoid *Aphidius colemani*[J]. *Ent Exp Appl*,2000,97(1):41-46
- [20] 杨 伟. 人工繁育中川硬皮肿腿蜂遗传分化及学习行为研究[D]. 雅安:四川农业大学,2008
- [21] 谢正华. 寄生经历对川硬皮肿腿蜂寄主搜索行为的影响[J]. *昆虫知识*,2006,43(4):520-523
- [22] 刘树生,施祖华. 赤眼蜂研究和应用进展[J]. *中国生物防治*,1996,12(2):78-84