

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2017.03.004

烟草感染两种病毒对烟蚜种群增长、 寄主选择与传毒的影响^①

王 佳, 王亚峰, 蒲 颇, 陈 媛, 刘映红

西南大学 植物保护学院 昆虫研究所, 重庆 400716

摘要: 寄主植物烟草受到烟草花叶病毒(TMV)和黄瓜花叶病毒(CMV)单侵染及复合侵染后, 对烟蚜种群增长、寄主选择行为及 CMV 的传播效率产生显著影响。两种病毒侵染烟草, 尤其是复合侵染能降低对烟蚜的适合度, 抑制烟蚜种群增长。烟蚜在依靠嗅觉和视觉对寄主进行初次选择时, 对 CMV 侵染烟草的选择率最高, 当烟蚜取食寄主植物并直接判断食物品质后, 会再次对寄主进行选择, 最终对健康烟草的选择率最高。实验结果表明: CMV 感染烟草后能吸引更多的烟蚜取食并获取病毒, 同时降低烟草对烟蚜的适合度, 促使蚜虫选择新寄主, 从而有利于病毒在田间扩散。尽管烟蚜对病毒复合侵染烟草的选择率最低, 但取食后对 CMV 的传播效率却显著提高。

关键词: 烟蚜; 烟草花叶病毒; 黄瓜花叶病毒; 烟草; 种群增长; 寄主选择; 传毒效率

中图分类号: S435.72

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2017)03-0023-05

烟蚜 *Myzus persicae* (Sulzer) 是农业作物的主要害虫之一, 其寄主范围广泛, 已报道的寄主约 50 科 400 多种^[1]。烟蚜对植物的危害方式包括直接取食、诱发煤污病、传播植物病毒, 其中传播植物病毒造成的危害最为严重^[2-5]。近年来, 烟蚜及传播的植物病毒给各地烟草产业带来了巨大影响, 如重庆武隆烟区大量烟草受到病毒感染, 绝大部分为病毒复合侵染^[6], 其中非蚜传烟草花叶病毒(TMV)与蚜传黄瓜花叶病毒(CMV)的侵染率最高。CMV 的蚜传方式为非持久式, 烟蚜在带毒烟草上取食的过程中病毒粒子会吸附在口针内的结合位点上, 当这些蚜虫迁移到健康烟草上再次刺吸时, 便将病毒传播给了正常植株, 造成病毒在田间扩散。

植物病毒-媒介昆虫-植物三者间往往产生复杂的互作关系, 如媒介昆虫烟粉虱取食感染双生病毒的烟草后, 生物学特性发生显著变化, 有利于烟粉虱种群的增长及病毒的传播, 而烟粉虱自身携带双生病毒后却不利于种群增长^[7]。这表明三者互作的复杂性, 其机理涉及到植物防御反应及昆虫自身生理途径的变化^[8-9]。病毒-烟蚜-烟草三者的互作关系可能也对田间烟草病毒病的发生和扩散产生影响。本研究主要调查 TMV、CMV 单侵染与复合侵染烟草时对以之为食的烟蚜种群增长、取食选择的影响, 以及复合侵染后 CMV 蚜传效率的变化, 旨在部分揭示病毒与烟草及烟蚜互作的模式, 充实烟草病毒病防控的理论基础。

① 收稿日期: 2015-05-12

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项基金(SWU112044); 中国博士后科学基金(2014M552307); 西南大学学科团队研究项目(2362014XK08)。

作者简介: 王 佳(1985-), 男, 四川绵阳人, 博士, 讲师, 主要从事农业昆虫与害虫防治研究。

通信作者: 刘映红, 研究员, 博士研究生导师。

1 材料与方法

1.1 蚜虫饲养与带毒烟草的获取

烟蚜于 2012 年 9 月采自重庆武隆, 无翅烟蚜于人工气候箱中采用培养皿单叶饲养法饲养, 有翅烟蚜采用食物恶化法诱导^[10-11], 将烟蚜饲养于发黄老叶上, 从第二代若虫中挑取有翅蚜用于实验. 蚜虫饲养条件为温度 23/18 °C, 光周期 14/10 h.

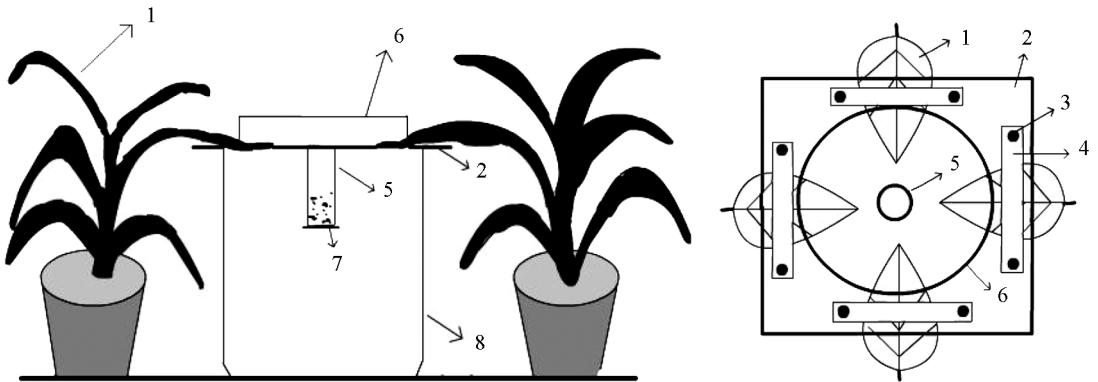
带毒烟草的获取采用摩擦接种法. 健康烟草生长至 6~7 叶期时, 取新鲜感毒植株 1 g 在 100 mL 磷酸缓冲液(pH=7.0, 0.01 mol/L)中研磨匀浆作为毒源, 随后在健康植株接种点(约 1 cm² 范围)均匀洒一薄层石英砂, 用蘸有病株汁液的研磨杵由叶柄向叶尖方向轻轻摩擦 1~2 次. 每株植株设 2 个接种点, 分别位于下部相对生长的叶片上. 烟草置于人工气候箱中生长, 温度 25 °C, 光周期 14/10 h.

1.2 带毒烟草对烟蚜种群增长的影响

参照臧连生等^[12]的方法制作夹叶笼, 分别夹在健康植株、TMV 毒株、CMV 毒株、TMV+CMV 复合侵染毒株上层叶片上. 挑取 5 头无翅成蚜放置于每个夹叶笼中, 12 h 后移走成蚜和多余的若蚜, 每笼只保留新生若蚜 3 头. 将整个植株置于人工气候箱中培养, 10 d 后统计每笼蚜虫数量, 计算种群增长速率(头/d). 每个处理重复 6 次.

1.3 烟蚜对带毒烟草的取食选择

参考 Castle 等^[13]及 Ingwell 等^[14]的方法并加以改动, 制作四向蚜虫取食选择装置(图 1). 将白纸板裁成 15 cm×15 cm 的正方形, 中间钻一直径约 1.6 cm 的小孔. 将白纸板盖在烧杯上, 使其中心与杯口中心重合, 纸板与杯口的连接处用热熔胶封严. 用小纸条和图钉将整株烟的第 6 片叶固定在纸板上, 使每片叶尖到纸板中心小孔的距离大致相等. 取 1 个 10 mL 离心管, 距管口 5 cm 处切去管底并去掉管帽, 在管底的切口处用热熔胶粘上一片尼龙纱网. 使用时, 先将 50 头有翅蚜挑入离心管, 使所有蚜虫集中于离心管底部的纱网上, 将离心管插入纸板中心的圆孔中, 倒扣上一个培养皿盖, 分别于 10 min 和 30 min 后观察烟蚜对 4 种叶片的初次选择情况与再次选择情况, 计算 2 个时间点烟蚜在 4 种叶片上的分布率. 每个处理重复 4 次.



左为侧视图, 右为俯视图. 1. 烟叶(未离体); 2. 白板; 3. 图钉; 4. 小纸条; 5. 离心管; 6. 培养皿; 7. 纱网片; 8. 烧杯.

图 1 四向选择装置示意图

1.4 病毒复合侵染对 CMV 蚜传效率的影响

将有翅蚜饥饿处理 1 h 后, 令其分别取食 CMV 植株及 CMV+TMV 植株 10 min 以获取病毒颗粒. 随后分别挑取 5 头或 10 头获毒蚜虫取食健康植株 10 min. 每处理组接种 20 株供试烟, 30 d 后统计出现明显症状的烟株数, 计算传毒效率, 无症状或症状不明显的烟株用 ELISA 进一步确认是否为隐症侵染. 每个处理重复 3 次.

1.5 数据处理

采用 SPSS 16.0 for windows 统计软件中的 One-Way ANOVA 对实验数据进行显著性差异分析. 进行 ANOVA 数据分析前, 对所有百分数进行反正弦平方根转换.

2 结果与分析

2.1 带毒烟草对烟蚜种群增长的影响

不同接毒处理的烟草对烟蚜种群增长的影响之间的差异极具有统计学意义 ($F=441, p<0.01$) (图 2). 取食对照组烟草的烟蚜种群增长速率最高, 为 6.83 头/d. 两种病毒单独侵染或复合侵染烟草后都对烟蚜种群增长产生了不利影响, 其中以病毒复合侵染对种群增长的抑制作用最强, 仅为 1.35 头/d.

2.2 烟蚜对带毒烟草的取食选择

烟蚜在取食选择装置中释放 10 min 及 30 min 后, 对不同处理烟草的选择之间的差异均极具有统计学意义 (10 min: $F=17.7, p<0.01$; 30 min: $F=16.4, p<0.01$) (图 3). 在烟蚜释放 10 min 的初次选择时, 烟蚜对 CMV 侵染烟株的选择率为 33%, 显著高于对 TMV 侵染的选择率 12% 及两者复合侵染植株的选择率 10%, 也高于对健康植株的选择率 25%, 但差异不具有统计学意义. 在烟蚜释放 30 min 的再次选择时, 对健康植株的选择率达到 46.5%, 显著高于对病毒侵染植株的选择率.

2.3 病毒复合侵染对 CMV 蚜传效率的影响

烟蚜取食 CMV 侵染烟草及 CMV+TMV 复合侵染烟草后, 都能传播 CMV 至健康烟草. 使用 5 头蚜虫传播病毒时, 取食复合侵染烟草后传播 CMV 的效率为 68.33%, 显著高于取食 CMV 侵染烟草的传毒效率 46.67% ($F=9.4, p<0.05$); 使用 10 头蚜虫传播病毒时, 取食复合侵染烟草的传毒效率为 91.65%, 极显著高于取食 CMV 侵染烟草的传毒效率 78.35% ($F=34.0, p<0.01$). 此外, 传毒虫口数的增长也能提高病毒传播效率 (图 4).

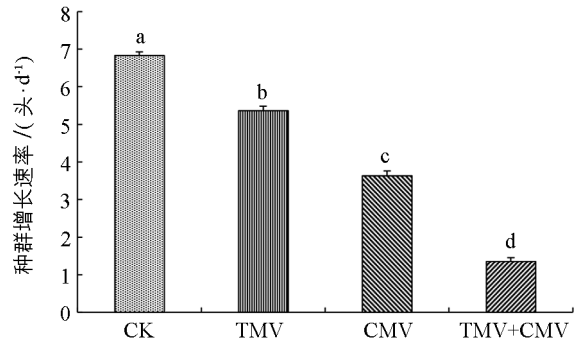


图 2 在不同处理烟草上取食 10 d 的种群增长率

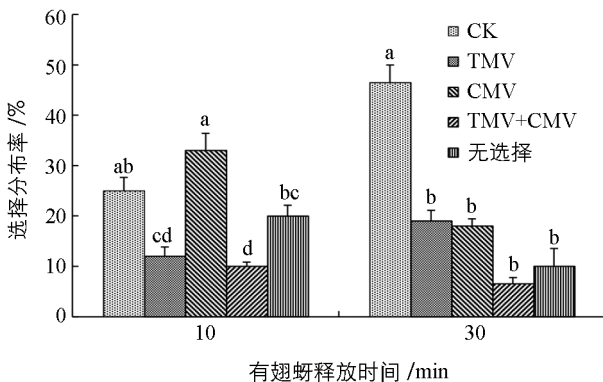


图 3 有翅烟蚜在四向选择装置中 对不同处理烟草的选择分布率

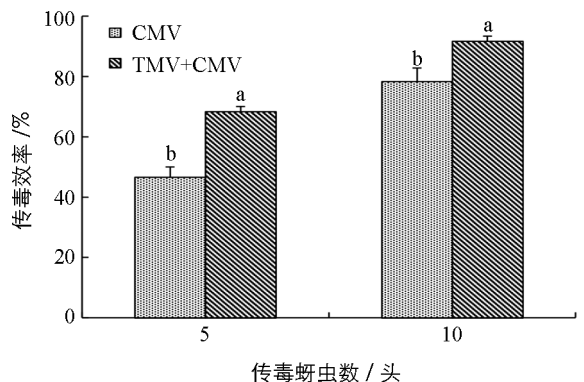


图 4 有翅蚜取食不同处理烟草后 对 CMV 的传毒效率

3 讨论

本研究结果表明 TMV, CMV 单侵染及复合侵染烟草时, 都会对取食的烟蚜产生不利影响, 抑制其种群增长速度, 尤其是病毒复合侵染的植株对蚜虫种群增长的抑制效果更为强烈 (图 2). 这可能是由于病毒侵染烟草后诱导了烟草的防御反应, 使其体内某些防御性次生物质质量浓度升高, 影响了蚜虫的取食行为和对食物的利用^[15]; 病毒感染可能导致烟草中的可溶性糖、蛋白质等质量浓度下降^[16], 降低了食物品质,

不能满足蚜虫生长发育的需要,当多种病毒复合侵染植株时,可能更严重地改变了植株的生理特性,从而更加不利于烟蚜生长。

尽管感毒烟草对烟蚜的适合度降低,烟蚜却在寄主选择实验中更倾向于首先选择 CMV 感染的烟草。随着时间的推移烟蚜会对寄主做再次选择,最终在健康植株上的分布率最高(图 3)。这种变化可能与烟蚜对寄主植物的判别方式有关,烟蚜在首次选择寄主时依靠视觉和嗅觉来对食物适合度作出初步判断^[17-18],在接触寄主植株后则通过取食直接判定食物的质量。Mauck 等^[19]发现西葫芦感染 CMV 后,植株释放的挥发性化合物较健康植株更加丰富,而有翅烟蚜触角上的次生感觉圈可以嗅辨植物释放的挥发性化合物^[20-22]。因此,挥发性化合物的变化可能会导致蚜虫的动态响应^[23]。在本研究中,烟草感染 CMV 后可能会产生相似的生理变化,释放更多的挥发性化合物,从而吸引烟蚜取食并在这个过程中使烟蚜获取病毒。另外,由于 CMV 降低了烟草的适合度,蚜虫在短暂刺探取食后会转而寻找更适合的寄主植物,同时也将携带的病毒传播到别的植株上,这个过程促使了 CMV 在田间的大规模扩散。

在烟田中烟草往往不会只受到一种病毒的侵染,而是受到多种病毒的复合侵染^[6]。本研究结果表明,尽管烟草被 CMV 和 TMV 复合侵染后,对烟蚜的吸引力和适合度都显著降低,但是却能显著提高烟蚜对 CMV 的传播效率(图 4)。CMV 在植物细胞中并不是以游离分散状态存在,而是积聚于细胞质的大内含体中^[24-25],蚜虫对植物的刺探并不能每次都顺利获得病毒。烟草被病毒复合侵染后适合度大大降低,可能使有翅烟蚜在烟草上的刺探频率增大,因而增加了获取病毒的成功率,导致了病毒传播效率的提高。

参考文献:

- [1] WEBER G. Genetic Variability in Host Plant Adaptation of the Green Peach Aphid [J]. *Entomology*, 1985, 38(1): 49-56.
- [2] 段玉琪,秦西云,莫笑晗,等.烟草丛顶病(TBTV)传毒特性及寄主范围研究[J].*中国烟草科学*, 2003, 24(4): 23-26.
- [3] 韩晓东,陈瑞泰,李林森,等.我国烟草的一个重要病毒—马铃薯 Y 病毒[J].*上海农业科技*, 1985(2): 20-21.
- [4] 李正跃,孙跃先,严乃胜,等.烟蚜传播云南烟草丛枝病研究[J].*中国烟草学报*, 2000, 6(2): 27-30.
- [5] 任广伟,王凤龙,王秀芳,等.感染病毒的烟草对烟蚜种群及蜜露排泄的影响[J].*华北农学报*, 2006, 21(2): 118-120.
- [6] 青玲,刘映红,马丽娜.武隆烟区烟草病毒病的病原初步判定[J].*西南农业大学学报(自然科学版)*, 2005, 27(3): 319-322.
- [7] JIU Min, ZHOU Xue-ping, TONG Lin, et al. Vector-Virus Mutualism Accelerates Population Increase of an Invasive Whitefly [J]. *PLoS ONE*, 2007, 2(1): e182.
- [8] ZHANG Tong, LUAN Jun-bo, QI Jin-feng, et al. Begomovirus-Whitefly Mutualism is Achieved Through Repression of Plant Defences by a Virus Pathogenicity Factor [J]. *Molecular Ecology*, 2012, 21(5): 1294-1304.
- [9] WANG Jia, BING Xiao-li, LI Meng, et al. Infection of Tobacco Plants by a Begomovirus Improves Nutritional Assimilation by a Whitefly [J]. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2012, 144(2): 191-201.
- [10] MÜLLER C B, WILLIAMS I S, HARDIE J. The Role of Nutrition, Crowding and Interspecific Interactions in the Development of Winged Aphids [J]. *Ecological Entomology*, 2001, 26(3): 330-340.
- [11] 岳碧松,邹方东,孙奇志.有翅型萝卜蚜的产生及其生长繁殖研究[J].*西南农业大学学报*, 2002, 24(1): 17-20.
- [12] 臧连生,刘银泉,刘树生.一种适合粉虱实验观察的新型微虫笼[J].*昆虫知识*, 2005, 42(3): 329-331.
- [13] CASTLE S J, MOWRY T M, BERGER P H. Differential Settling by *Myzus Persicae* (Homoptera: Aphididae) on Various Virus Infected Host Plants [J]. *Annals of the Entomological Society of America*, 1998, 91(5): 661-667.
- [14] INGWELL L L, EIGENBRODE S D, BOSQUE-PÉREZ N A. Plant Virus Alter Insect Behavior to Enhance Their Spread [J]. *Scientific Reports*, 2012(2): 578.
- [15] WHITFIELD A E, ULLMAN D E, GERMAN T L. Tospovirus-Thrips Interactions [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2005, 43: 459-489.
- [16] 毛健民,郑爱珍,白岩,等.烟草叶片感染花叶病毒时的某些生理生化变化[J].*吉林农业大学学报*, 2002, 24(4): 19-21.

- [17] 苏建亚,夏基康. 蚜虫的寄主选择与取食行为 [J]. 南京农业大学学报, 1987, 10(2): 42-47.
- [18] WEBSTER B. The role of olfaction in aphid host location [J]. *Physiological Entomology*, 2012, 37(1): 10-18.
- [19] MAUCK K E, DE MORAES C M, MESCHER M C. Deceptive Chemical Signals Induced by a Plant Virus Attract Insect Vectors to Inferior Hosts [J]. *Proceedings of the National Academy of the Sciences of the United States of America*, 2010, 107(8): 3600-3605.
- [20] 赵立静,班丽萍. 蚜虫触角感受器结构及功能研究进展 [J]. 应用昆虫学报, 2011, 48(4): 1077-1086.
- [21] 张峰,张钟宁. 各型桃蚜触角感器的比较研究 [J]. 昆虫学报, 2000, 43(S1): 131-136.
- [22] SHAPIRO L, MORAES C M, STEPHENSON A G, et al. Pathogen Effects on Vegetative and Floral Odours Mediate Vector Attraction and Host Exposure in a Complex Pathosystem [J]. *Ecology Letters*, 2012, 15(12): 1430-1438.
- [23] BOSQUE-PÉREZ N A, EIGENBRODE S D. The Influence of Virus-Induced Changes in Plants on Aphid Vectors: Insight for Luteovirus Pathosystems [J]. *Virus Research*, 2011, 159(2): 201-205.
- [24] STÉPHANE B, MARILYNE U, MARTIN D. New Research Horizons in Vector-Transmission of Plant Viruses [J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2011, 14(4): 483-491.
- [25] 杨旭光,罗大全,车海彦. 蚜传植物病毒传播复合体形成机理 [J]. 热带农业科学, 2005, 25(3): 76-79.

Effect of Two Viruses Infecting Tobacco on Population Growth, Host Plant Selection and Virus Transmission Efficiency of Aphids

WANG Jia, WANG Ya-feng, PU Po,
CHEN Yuan, LIU Ying-hong

Institute of Entomology, School of Plant Protection, Southwest University, Chongqing 400716, China

Abstract: In a study reported herein tobacco, the host plant of aphids, was infected or co-infected by tobacco mosaic virus (TMV) or/and cucumber mosaic virus (CMV), and the results showed that their effects on aphids' population growth, host plant selection, and transmission efficiency of CMV were significant. Infection, especially co-infection, of the two viruses decreased the suitability of the tobacco plants to aphids and inhibited aphids' population growth. However, significantly more aphids originally selected CMV-infected tobacco plants depending on olfactory and visual sense. After feeding on the host plants and directly judging food quality, aphids made host plant selection again and, eventually, relatively more aphids selected healthy plants. These results indicated that CMV-infected tobacco plants attracted more aphids to feed on them and acquired virus, thus decreasing their suitability to tobacco aphids. In consequence, the aphids were attracted to feed on other plants, thus contributing to the spread of the virus in the field. In addition, the aphids which acquired virus from co-infected plants had significant higher transmission efficiency of CMV, even though their selection rate to co-infected plants was the lowest.

Key words: *Myzus persicae* (Sulzer); tobacco mosaic virus; cucumber mosaic virus; tobacco; population growth; host selection; virus transmission efficiency

