

桃小食心虫卵收集方法的改进^{*}

张恺月^{**} 王子谦 王洪平^{***}

(沈阳农业大学植物保护学院, 沈阳 110866)

摘 要 本文介绍了一种用绒面壁纸作为卵卡收集桃小食心虫 *Carpocapsa sasakii* Matsumura 卵的方法。利用显微镜测试了绒面的绒毛高度和密度, 并从落卵量和卵的孵化率两方面对这种卵卡和传统的滤纸卵卡进行了比较。结果表明, 滤纸卵卡和绒面卵卡上的总落卵量无显著差异, 平均为 (303.77 ± 51.03) 粒和 (330.23 ± 44.85) 粒, 其中成虫交尾后 48 h 内的落卵量平均为 (303.77 ± 51.03) 粒和 (330.23 ± 44.85) 粒, 其中成虫交尾后 48 h 内的落卵量为 (176.31 ± 38.96) 粒和 (223.92 ± 30.69) 粒 ($P < 0.001$)。成虫交尾后 48 h 内产下的卵平均孵化率为 93.97% 和 94.56%, 48 h 后产下的卵平均孵化率为 83.87% 和 83.58%, 即成虫交尾后 48 h 后产下的卵的孵化率显著低于交尾后 48 h 内产下的卵 ($P < 0.001$), 但同期落于两种卵卡上的卵孵化率差异不大。因此, 使用绒面卵卡能显著提高初孵幼虫的数量, 在得到相同虫量的情况下, 显著降低成本。且相对于人工刮制的传统卵卡, 使用绒面卵卡, 很好的避免了因手工制作导致的一致性差、耗时长、人工费昂贵的问题, 为收集桃小食心虫卵提供了一种较为理想的方法。

关键词 桃小食心虫, 人工饲养, 卵

Improved method for collecting eggs of the peach fruit borer, *Carpocapsa sasakii* Matsumura

ZHANG Kai-Yue^{**} WANG Zi-Qian WANG Hong-Ping^{***}

(College of Plant Protection, Shenyang Agricultural University, Liaoning 110866, China)

Abstract A new method of collecting *Carpocapsa sasakii* Matsumura eggs is described. Villus height and density of egg cards was determined using a microscope. There was no difference in the total average number of eggs laid, or their hatching rate, on suede wallpaper (303.77±51.03) vs scraped filter paper (330.23±44.85). However, there was a significant difference in the average number of eggs laid on these two substrates within 48 hours of mating (176.31±38.96 vs 223.92±30.69; $P < 0.001$). The average hatching rates for each substrate were 93.97% and 94.56%, respectively. After an additional 48 hours, hatching rates decreased to 83.87% and 83.58%; i.e. the hatching rate on both substrates was significantly higher after 48 hours than after 96 hours ($P < 0.001$). There was no significant difference in the hatching rate of eggs laid within the same time period on each substrate. Oviposition on suede wallpaper can greatly increase the number of early larvae, and reduce the cost of producing the same number of insects. Suede wallpaper substrate was clearly more cost effective than the traditional method of hand-painting egg cards and consistently produced better results.

Key words *Carpocapsa sasakii* Matsumura, artificial feeding, egg

桃小食心虫 *Carpocapsa sasakii* Matsumura, 国、日本、俄罗斯远东地区的果区均有危害; 在
又叫桃蛀果蛾, 在国外, 桃小食心虫在朝鲜、韩 国内, 它广泛分布于北部及西北部苹果、山楂、

^{*} 资助项目 Supported projects: 国家公益性行业 (农业) 科研专项经费项目 “北方果树食心虫综合防控技术研究与示范推广 (201103024)”

^{**} 第一作者 First author, E-mail: sasakii@outlook.com

^{***} 通讯作者 Corresponding author, E-mail: Wanghongping@163.com

收稿日期 Received: 2015-06-15, 接受日期 Accepted: 2015-11-09

梨及枣产区,是落叶果树生产中的重点防治对象(刘玉升和程家安,1997)。在实验室内开展防治技术的研究需要大量的供试昆虫,而桃小食心虫无明显趋光性,引诱剂也很难引诱到大量的雌雄个体,田间获取桃小食心虫很困难,且自然界中获得的桃小食心虫无论从个体均匀性,生物学一致性,还是采集数量上都很难持续供应大规模的试验,必须依靠人工饲养才能满足需求。目前,桃小食心虫人工饲料在使用过程中存在易腐烂发霉的情况,人工饲料的研制尚未成熟,本实验室使用苹果饲养桃小食心虫,但此法成本过高,其中人工费用占了很大比例。候月利和花蕾(2004)及张月亮等(2006)用刮毛的滤纸条供成虫产卵,其采卵效果比较好。但在大规模的饲养过程中,刮毛法制作卵卡不但费时费力且一致性不好。此外,成虫在滤纸毛茬处产下的卵易成堆结块,卵粒之间相互遮挡,不便于计数和观察。因此,拥有一种简便高效的卵卡,不仅节约成本,同时也能使饲养工作达到事半功倍的效果。针对目前饲养工作中卵卡选择上的不足,作者换用一种绒面壁纸作为卵卡,相比较传统的滤纸卵卡,在一定程度上提高了卵的孵化率。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试虫源为本实验室连代饲养 45 代的桃小食心虫成虫,饲养条件:(25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,光周期 15L:9D,80%RH;原始虫源:河南科技大学;绒面壁纸(爱花牌,苍南县尚美装饰材料有限公司);定性滤纸(9 cm,新星牌,杭州特种纸业有限公司);徕卡 13395H2X 生物显微镜;盖玻片(帆船牌,射阳汇达医疗器械有限公司)。

1.2 绒面卵卡表面的物理性状的观察

1.2.1 测量绒毛垂直高度和密度 利用显微镜细准焦螺旋旋转角度与盖玻片厚度的相关性,测量绒面壁纸上绒毛的垂直高度。

测量原理:将 6 个做有标记的盖玻片叠成一摞,放在显微镜下,记录细准焦螺旋的初始位置。

观察盖玻片上的标记,记录由下到上的每个盖玻片上的标记最清晰时,显微镜细准焦螺旋与初始位置的角度差,即细准焦螺旋的旋转角度。以旋转角度为横坐标,以盖玻片厚度为纵坐标(盖玻片厚度均匀且一致)建立标准曲线。然后,通过显微镜观察并记录被测绒毛的基部和顶部最清晰时,细准焦螺旋的旋转角度,即可利用标准曲线得到被测绒毛的垂直高度。具体做法如下。

(1) 绘制标准曲线:绘出一条显微镜细准焦螺旋的半径作为指针,再把一个标有刻度的圆盘套在细准焦螺旋上。将 6 片盖玻片整齐的叠成一摞,用游标卡尺测量盖玻片总厚度。在每个盖玻片上用记号笔做一个标记。在显微镜下观察并记录每个标记最清晰时细准焦螺旋指针所对应的刻度(放大 150 $\times$)。以旋转角度为横坐标,以盖玻片厚度为纵坐标作标准曲线。

(2) 测量绒毛垂直高度和密度:在 2 cm $\times$ 5 cm 的绒面壁纸上,采用五点取样法选取 5 个 0.1 cm² 的小正方形区域作为处理区,于显微镜下随机在各处理区中选择 1 根绒毛,记录这根绒毛基部和顶部最清晰时指针所对应的角度,利用标准曲线计算被测绒毛的垂直高度。并在显微镜下统计每个处理区内的绒毛数量。在另外取等大绒面壁纸,重复 5 次五点取样过程。

1.2.2 滤纸卵卡和绒面卵卡落卵的分布情况

滤纸卵卡的制作:将滤纸裁剪成 2 cm $\times$ 5 cm 大小,用美工刀刀尖在纸面反复划直线,直至刮出毛茬(候月利和花蕾,2004)。

取 2 个罐头瓶(直径 6 cm,300 mL),分别在瓶底部中央放入一张剪裁好的滤纸卵卡或等大的绒面卵卡(毛面朝上),以及一对羽化 24 h 内的健康成虫。罐头瓶用纱网封口,纱网上放置含水脱脂棉保湿(候月利和花蕾,2004)。48 h 后取出卵卡,用显微镜和测微尺对卵卡上卵的间距做频数分析(所有卵粒进行两两测量)。设 5 次重复。

1.3 落卵量和孵化率的比较

分别在 2 个罐头瓶里各放入一张 2 cm $\times$

5 cm 的滤纸卵卡或等大的绒面卵卡, 以及一对羽化 24 h 内的健康成虫。每天统计产卵量并更换卵卡, 直至雌虫死亡(期间若有雄虫死亡, 要用健康雄虫补上), 然后将卵卡移入培养皿中, 用湿棉球保湿, 将 48 h 内收集的卵卡和之后收集的卵卡做好区分标记。待卵孵化完毕, 统计未孵化卵量, 计算 48 h 内和 48 h 后产下的卵的孵化率。设 5 次重复。

以上试验均在 (25 ± 1) , 光周期 15L : 9D, 80%RH 的培养箱内进行。

1.4 数据分析方法

用 SPSS 20.0 进行独立样本 *t*-检验 频数分析。

2 结果与分析

2.1 绒面卵卡表面的物理性状

根据细准焦螺旋旋转角度与盖玻片厚度的关系绘制标准曲线(图 1), 由图 1 可知, 标准曲线呈线性, 且相关性好 ($R^2=0.9982$)。并由标准曲线计算得出: 绒毛的自然高度平均为 0.52 mm, 绒毛密度平均为 3 929.57 个/cm², 在绒面壁纸上随机选择的各个区域内, 绒毛的垂直高度和密度的差异不显著 ($P>0.05$)。此外, 绒面壁纸卵卡的绒毛布满整张卵卡, 有效采卵面积显著大于滤纸卵卡(图 2)。

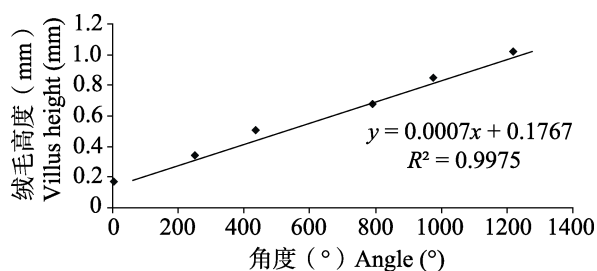


图 1 细准焦螺旋旋转角度与盖玻片厚度的标准曲线
Fig. 1 Fine adjustment angle standard curve determined by cover glass thickness

2.2 滤纸卵卡和绒面卵卡上 48 h 落卵分布频率比较

结果表明, 滤纸卵卡上卵间距为 0 mm 的占 57.69%, 相互重叠的卵占总卵量的 7.5%; 绒面

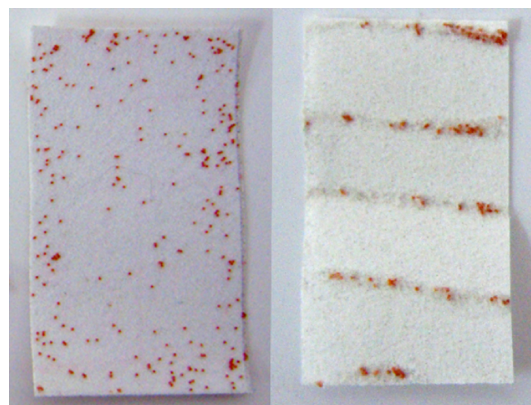


图 2 滤纸卵卡和绒面卵卡落卵的分布
Fig. 2 The distribution of the eggs on the filter paper and the suede wallpaper

卵卡上卵间距为 0.33 ~ 0.66 mm 的占 18.1%, 卵间距为 0 的仅占 14.37%, 没有相互重叠的卵。两种卵卡上的卵间距在除 0 ~ 0.33 mm 以外的各区间均存在显著差异(图 3), 即卵在绒面卵卡上的分散性更好。

2.3 落卵量和孵化率的比较

数据分析显示, 滤纸卵卡和绒面卵卡上的单雌产卵总量无显著差异 ($P>0.05$), 平均为 (303.77 ± 51.03) 粒和 (330.23 ± 44.85) 粒, 其中成虫交尾后 48 h 内的落卵量为 (176.31 ± 38.96) 粒和 (223.92 ± 30.69) 粒 ($P<0.001$)。成虫交尾后 48 h 内产下的卵平均孵化率为 93.97% 和 94.56%, 48 h 后产下的卵平均孵化率为 83.87% 和 83.58%, 即成虫交尾后 48 h 后产下的卵的孵化率显著低于交尾后 48 h 内产下的卵 ($P<0.001$), 但同期落于两种卵卡上的卵孵化率差异不大(图 4, 图 5)。

研究结果表明: (1) 绒面卵卡的有效采卵面积更大, 性质均匀稳定, 落卵更分散, 且绒毛形态类似苹果萼洼处的绒毛。(2) 绒面卵卡能在成虫交尾后的 48 h 内采集到更多的卵, 这种卵的孵化率显著高于交尾后 48 h 后产的卵。而成虫在两种卵卡上的单雌产卵总量没有差异, 因此在落卵总量上绒面卵卡可以满足普遍饲养需求。(3) 使用绒面卵卡在减少人工差异方面要优于滤纸卵卡, 能够降低试验误差。

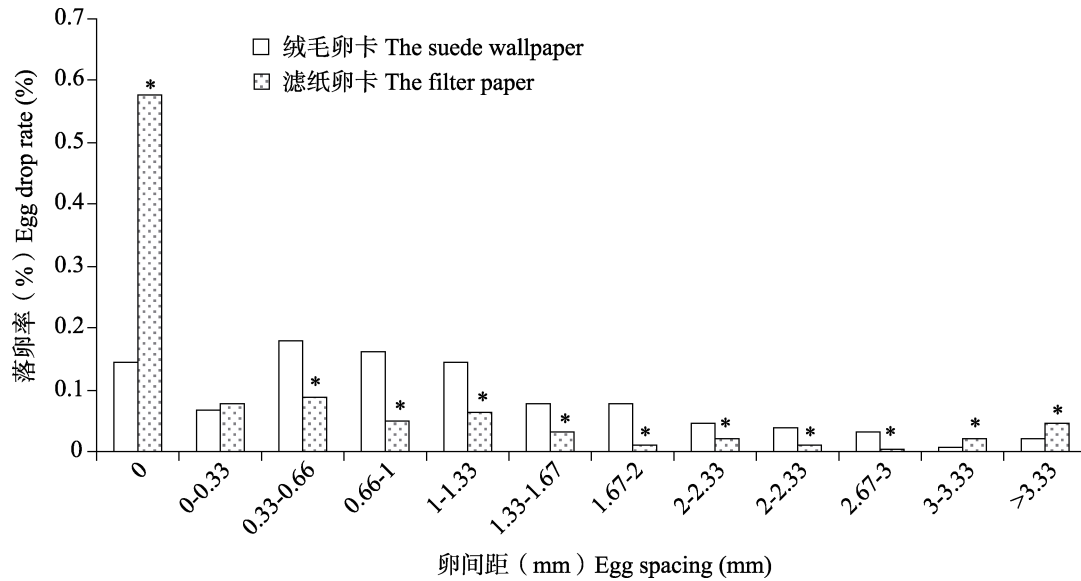


图3 滤纸卵卡和绒面卵卡上各间距区间的落卵率比较

Fig. 3 The egg drop rate of the different space between the eggs on the filter paper and the suede wallpaper

图中*代表 5%显著性水平。

* represents 5% significance level.

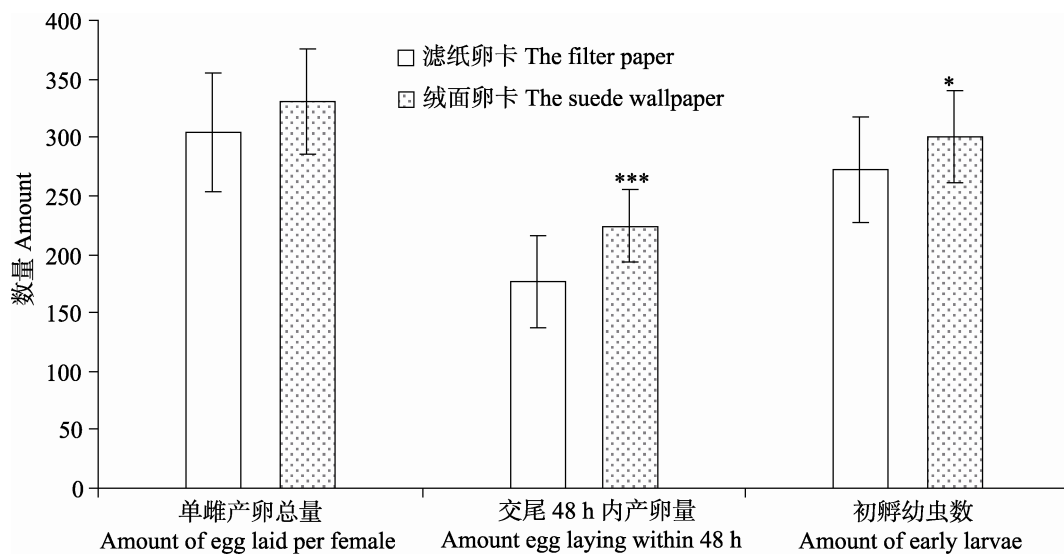


图4 两种卵卡收集的卵量和初孵幼虫数量

Fig. 4 The amount of eggs and early larvae on the two egg cards

图中*代表 5%显著性水平, *** 代表 0.1%显著性水平。

* represents 5% significance level, *** represents 0.1% significance level.

3 讨论

鳞翅目昆虫产卵时,多产于粗糙的物理表面,粗糙的介质可使卵更牢固的附着(Ramaswamy, 1988; Gall, 1990)。自然条件下的桃小食心虫,有将卵产于苹果萼洼等粗糙部位的偏好(翟文博

和王洪平, 2010),人工饲养过程中,目前一直选择使用刮毛滤纸条来模拟苹果萼洼的特点(侯月利和花蕾, 2004)。

然而,该方法依然有很多不足,刮毛法制作卵卡费时费力且一致性不好。此外,成虫在滤纸毛茬处产下的卵易成堆结块,卵粒之间相互遮

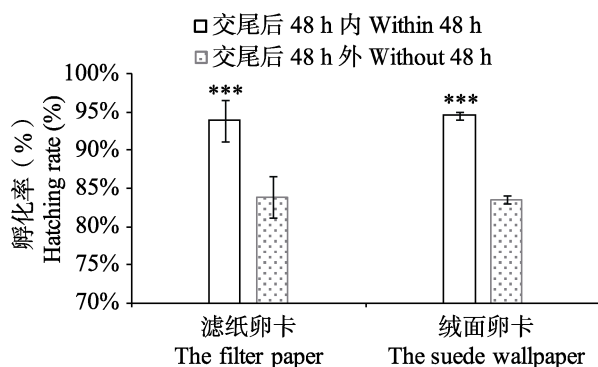


图 5 成虫交尾后的 48 h 内、外在两种卵卡上产的卵的孵化率

Fig. 5 The hatching rate of the eggs on the eggs cards within and without 48 h after adult mating

挡, 不便于计数和观察。本研究提出的用绒面壁纸作为卵卡的方法, 可以很好的解决以上问题。目前市面上滤纸的价格是 2.7 元/ m^2 , 绒面壁纸的价格是 6.9 元/ m^2 , 每张卵卡按 10 cm^2 来计算, 人工劳务费按 20 元/人/小时) 计算, 合制作每张滤纸卵卡需要 0.26 元, 而每张绒面壁纸卵卡的成本只需要 0.15 元, 更适合大规模饲养使用; 并且卵粒在绒面卵卡上多分散分布, 无堆叠与遮挡现象, 肉眼即可清晰分辨 (图 3), 不但有助于科研中产卵量的统计, 还便于在接卵过程中计数。研究显示, 在单雌产卵总量相同的情况下, 成虫交尾后的 48 h 内绒面卵卡的落卵量显著高于滤纸卵卡, 且这一时期 (成虫交尾后的 48 h 内) 所产下的卵孵化率较后期卵高 ($P < 0.05$), 可以得到更多的初孵幼虫; 目前, 关于桃小食心

虫的产卵行为与物理表面的关系还没有得出确切结论, 因此, 绒面壁纸是否是作为卵卡的最佳选择仍需进一步研究与证实。

参考文献 (References)

- Gall LF, 1990, Evolutionary ecology of sympatric *Catocala* moths (Lepidoptera: Noctuidae). III. Experiments on female oviposition preference. *Journal of Research on the Lepidoptera*, 29(3): 217–233.
- Hou YL, Hua L, 2004. Techniques for rearing *Carposina sasakii* Matsumura on apple. *Shaanxi Forestry Science and Technology*, (2): 24–26. [侯月利, 花蕾, 2004, 利用苹果饲养桃小食心虫的技术. 陕西林业科技, (2): 24–26.]
- Liu YS, Cheng JA, 1997. Review of the advances of the peach fruit-borer (*Carposina sasakii* Matsumura). *Journal of Shandong Agricultural University*, 28(2): 207–214. [刘玉升, 程家安, 1997. 桃小食心虫的研究概况. 山东农业大学学报: 自然科学版, 28(2): 207–214.]
- Ramaswamy SB, 1988, Host finding by moths: sensory modalities and behaviours. *Journal of Insect Physiology*, 34(3): 235–249.
- Zhai WB, Wang HP, 2010, Preliminary study on controlling *carposina niponensis* walsingham by using physical obstruct method. *Hubei Agricultural Sciences*, 49(5): 1112–1114 [翟文博, 王洪平, 2010, 物理阻隔法防治桃小食心虫初探. 湖北农业科学, 49(5): 1112–1114.]
- Zhang YL, Mu W, Zhao D, Liu YL, Yang LL, 2006, Rearing method for *Carposina niponensis* using apple in laboratory. *Chinese Bulletin of Entomology*, 43(3): 571–573. [张月亮, 慕卫, 赵德, 刘彦良, 杨连来, 2006, 用苹果饲养桃小食心虫的方法. 昆虫知识, 43(3): 571–573.]