短时温和低温对柑橘大实蝇 1~4 级 蛹羽化的影响*

马跃坤** 王福莲*** 李再园 黄 聪 邵 瑞

(长江大学农学院,长江大学昆虫研究所,荆州 434025)

摘 要 柑橘大实蝇 $Bactrocera\ minax$ (Enderlein)是我国柑橘类的重要害虫。与恒定的相对高温相比,冬季自然低温长期作用利于柑橘大实蝇蛹的存活。但短时的温和低温(发育起点以上,25°空温以下)对柑橘大实蝇 1^{-4} 级蛹存活的影响尚不明确。【目的】 本研究旨在探索不同时长的短时温和低温对柑橘大实蝇 1^{-4} 级蛹存活的影响。【方法】 利用短时温和低温暴露处理柑橘大实蝇不同级别(1, 2^{-3} ,4 级)蛹,考察其在 10、15、20°C下暴露 2、4、8 h 后的成虫羽化率。采用双因素方差分析法分析温度和时长对柑橘大实蝇蛹存活的影响,利用 LSD 法比较温度或时长的单独作用效果。【结果】 温度和时长对柑橘大实蝇 1 级蛹和 4 级蛹无交互作用,对 2^{-3} 级蛹有极显著交互作用。柑橘大实蝇 1 级蛹短时暴露于 15°C和 20°C下的成虫羽化率(66.79%,59.93%), 2^{-3} 级蛹在 10°C和 15°C下暴露 20°C下的成虫羽化率(20°C下的成虫羽(20°C下的成虫和(20°C下的成虫和(20°C下的成虫和(20°C下的成虫和(20°C下的成虫和(20°C下的成虫和(20°C下的成虫和(20°C下的成虫和(20°C下的成虫和(20°C下的成虫和(20°C下的成虫和(20°C下的成虫和(20°C下的成虫和(20°C下的成虫和(20°C下的成虫和(20°C下的成虫和(20°C下的风(20°C下的成虫和(20°C下的成虫和(20°C下的成虫和(20°C下的风(20°C下的风(20°C下的风(20°C下的风(20°C下的风(20°C下的风(20°C下的风(20°C下的风(20°C下的风(20°C下的风(20°C下的风(20°C下的风(20°C下的风(20°C下的风(20°C下的风(20°C下的风(20°C下的风(20°C下的风(20°C下的风(20°CT)(20°CT)(20°CT)(20°CT)(20°CT)(20

关键词 柑橘大实蝇,温和低温,短时暴露,蛹级,保存,预测

Effects of brief exposure to mild-low temperatures on the eclosion of 1^{st} - 4^{th} level pupae of the citrus fruit fly *Bactrocera minax* (Enderlein)

 $\label{eq:manu} \text{MA Yue-Kun}^{**} \quad \text{WANG Fu-Lian}^{***} \quad \text{LI Zai-Yuan} \quad \text{HUANG Cong} \quad \text{SHAO Rui}$

(College of Agriculture & Institute of Entomology Science, Yangtze University, Jingzhou 434025, China.)

Abstract *Bactrocera minax* is a major pest of citrus in China. Compared to constant relative high temperature, exposure to long, natural, low temperatures in winter contributes to the survival of *B. minax* pupae. However, it is still unclear how short term exposure to low temperatures (above the developmental point temperature but < 25) affects the survival of 1st-4th stage pupae. [Objectives] To investigate the effects of short-term exposure to different temperatures on the survival of *B. minax* 1st - 4th stage pupae. [Methods] Adult eclosion was investigated after pupae of different stages (1, 2-3, 4) were exposed to a range of temperatures (10, 15 and 20) for 2, 4 and 8 h, respectively. Pupal survival was calculated and interactions between temperature and duration of exposure were analyzed using two-way ANOVA followed by a LSD test. The significance of differences between eclosion rates following exposure to different temperatures, or exposure durations, were assessed using one-way ANOVA and a LSD test. [Results] There were no significant interactions between temperature and duration of exposure in all but 2nd and 3rd stage pupae. Eclosion rates of 1st stage pupae were 66.79% and 59.93% after exposure to 15 and 20 , respectively. Eclosion rates of 2nd -3rd stage pupae were 50.59% and 58.80% after exposure to 10 for 4 and 8 h, 54.96%, and 55.61% after exposure to 15 for 4 and 8 h, respectively. Eclosion rates of 4th stage pupae were 52.10%, 53.30% and 51.62%, after exposure to 10, 15 and 20 , respectively. These eclosion rates were all significantly higher than those of control pupae kept at 25 , (42.81%). [Conclusion] Brief exposure to mild-low temperatures improved the survival of

_

^{*}资助项目 Supported projects: 国家自然基金(31572010); 长江大学大学生创新计划项目(2014031)

^{**}第一作者 First author, E-mail: 15826544941@163.com

^{***}通讯作者 Corresponding author, E-mail: wangfl_hb@163.com 收稿日期 Received: 2016-03-31,接受日期 Accepted: 2016-12-06

1st-4th stage pupae, but the degree of improvement varied with pupal stage. These results can increase pupal survival, and improve both the accuracy of forecasting adult population dynamics and the effectiveness of control measures for this pest.

Key words Bactrocera minax (Enderlein), mild low temperature, brief exposure, pupa level, conserving, forecast

柑橘大实蝇 Bactrocera minax (Enderlein), 隶属于实蝇科,果实蝇属,大实蝇亚属(汪兴鉴和罗禄怡,1995),可造成柑橘大量落果,连续3年不防治可从5%增加到80%~100%(黄大树等,2007),在一些地区柑橘大实蝇已成为柑橘生产上的第一大虫害。曾经是全国检疫对象和禁境二类有害生物(中国人民共和国农业部,2006)。

柑橘大实蝇一年一代(肖桂章等,2007), 以蛹越冬。有研究发现柑橘大实蝇越冬蛹的自然 死亡率高达 40.1 % (赵毓潮等, 2002), 成虫发 生期的早迟常受当地气候因素(尤其是受温度这 一关键因子)的影响(汪兴鉴和罗禄怡,1995), 而温度是其发育的主要生态因子(罗禄怡和陈长 凤,1987)。全程控温在 25℃时,蛹的历期最 短(32~36 d)(罗禄怡和陈长凤,1987)。但与 恒定 25℃的相对高温相比(42.81%),冬季自 然低温(湖北 2012 年 11 月-2013 年 3 月冬季 变温 - 1~19℃) (https://tianqi.2345.com/)下蛹 的羽化率较高(72.7%)(陈爱娥等,2014)。 柑橘大实蝇蛹的发育起点温度为 10.57℃(罗禄 怡和陈长凤,1987),如将发育起点温度左右及 以上,室温25℃以下的温度定位为温和低温的 话,可见长期温和低温处理对柑橘大实蝇蛹的 存活有利,但短时温和低温对柑橘大实蝇蛹的 作用尚不明确。

柑橘大实蝇的蛹一般分为 0、1、2、3、4 级 (赵毓潮等,2002)。春季当外界温度达到发育起点时,柑橘大实蝇 0 级蛹开始向更高级别蛹转化。此时气温日较差较大(14、12、11 $^{\circ}$),倒春寒时有发生。因此,了解短时温和低温对柑橘大实蝇不同级别蛹存活的影响,对于柑橘大实蝇蛹的保藏和成虫的精准预报具有必要性。因此,分别采用 10、15、20 $^{\circ}$ 处理柑橘大实蝇不同级别蛹(1 级,2 $^{\circ}$ 3 级,4 级)2、4、8 h,观察其在 25 $^{\circ}$ 空温下的羽化情况。初步了解不同温和

低温作用不同时长后,柑橘大实蝇不同级别蛹的存活状况,为柑橘大实蝇蛹的保存和成虫的精准预报提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

2014 年 10 月下旬,在湖北省松滋市收集柑橘大实蝇的老熟幼虫,保存于含水量 15%左右的细沙之中,化蛹后存于 10℃冷库备用。

1.2 短时温和低温处理对柑橘大实蝇不同级别 蛹羽化的影响

翌年 3 月 30 日,当外界温度高于柑橘大实蝇发育起点温度(10.57° C)(罗禄怡和陈长凤,1987)时,将蛹从冷库取出置于 25° C人工气候箱(RZH-260 A 型,杭州汇尔仪器设备有限公司),当发育至 1 级(1 级蛹比例 95%),2~3 级(2~3 级蛹比例 70%)和 4 级高峰(4 级蛹比例70%)时,用 10、15、20、 25° C(CK)的温和低温分别处理 2、4、8 h 后转入 25° C培养箱继续发育(此时自然日均温在 25° C左右)。观察记录羽化情况至连续 10 d 没有成虫羽化时结束观察。以未 经低温处理的相应蛹级的蛹作为 CK(25° C)。每处理 30 头相应级别蛹,所有处理均设 5 个重复,沙土含水量控制在 10%~15%。

1.3 数据分析

羽化率计算于 EXCEL 中进行,温度和时长对羽化率影响的交互作用及方差(One-Way ANOVA/LSD)分析使用 SPSS17.0(美国 IBM 公司)软件进行。

2 结果与分析

2.1 短时温和低温对柑橘大实蝇 1 级蛹羽化的 影响

柑橘大实蝇 1 级蛹在 10、15、20℃下分别

处理处理后转移至 25° 发育至羽化。不同温度 对柑橘大实蝇 1 级蛹羽化有显著影响(P=0.000) (表 1),不同时长间对柑橘大实蝇 1 级蛹羽化 无显著影响(P=0.442),温度和时长对柑橘大实 蝇羽化无显著交互作用(P=0.111)。 在 15°C和 20°C温度下处理,柑橘大实蝇 1 级蛹羽化率(66.79%,59.93%)显著提高(P_{15} °C= 0.000, P_{20} °C=0.014)(图 1)。即 1 级蛹经 15°C和 20°C短时(2、4、8 h)温和低温处理,利于其羽化。

表 1 温度和时长对柑橘大实蝇 1 级蛹的交互作用

Table 1 The interactions between temperature and time on the 1st level pupa of the Bactrocera minax

源 Source	III 型平方和 Type III sum of squares	df	均方 Mean square	F	Sig.
温度 Temperature	3 379.1432	3	1 126.3811	18.5311	0.000
时长 Time	100.9716	2	50.4858	0.8306	0.442
温度×时长 Temperature×time	671.0358	6	111.8393	1.8400	0.111
误差 Error	2 917.5938	48	60.7832		
总计 Total	7 068.7444	59			

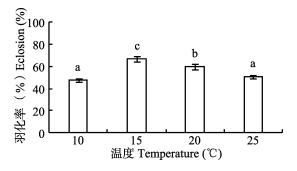


图 1 不同温度下柑橘大实蝇 1 级蛹的羽化率 Fig. 1 The eclosion of the 1st level pupa of the *Bactrocera minax* under different temperature

柱上标有不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。 下图同。

Histograms with different lowercase letters indicate significant difference at 0.05 level. The same below.

2.2 短时温和低温对柑橘大实蝇 2~3 级蛹羽化的影响

柑橘大实蝇 2~3 级蛹在 10、15、20℃下分

别处理 2、4、8 h 处理后转移至 25℃发育至羽化。 不同温度和时长对 2~3 级蛹羽化均有极显著影响 (P=0.000,0.000)(表 2)。温度和时长有极显著交互作用 (P<0.01)。

柑橘大实蝇 2~3 级蛹在 10°C下处理 4 h 和 8 h、15°C下处理 4 h 和 8 h,羽化率(50.59%和 58.80% ,54.98%和 55.61%)均显著高于 CK (45.54%)(图 2)。柑橘大实蝇 2~3 级蛹在 10°C和 15°C下处理 4 h 和 8 h ,利于其羽化。

2.3 短时温和低温对柑橘大实蝇 4 级蛹羽化的 影响

柑橘大实蝇 4 级蛹在 10、15、20°°下分别处理 2、4、8 h 处理后转移至 25°°发育至羽化。不同温度对柑橘大实蝇 4 级蛹羽化具有极显著影响 (P=0.000)(表 3)。不同时长对柑橘大实蝇 4 级蛹羽化无显著影响 (P=0.417)。温度和

表 2 温度和时长对柑橘大实蝇 2~3 级蛹的交互作用

Table 2 The interactions between temperature and time on the 2nd-3rd level pupa of the *Bactrocera minax*

源 Source	III 型平方和 Type III sum of squares	df	均方 Mean square	F	Sig.
温度 Temperature	548.7975	3	182.9325	13.6135	0.000
时长 Time	1 015.29	2	507.645	37.7782	0.000
温度×时长 Temperature×time	259.1504	6	43.1917	3.214	< 0.010
误差 Error	644.9909	48	13.4373		
总计 Total	2 468.229	59			

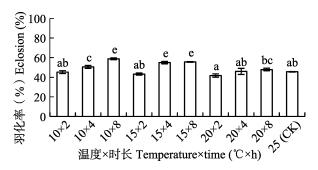


图 2 温度和时长综合作用下柑橘大实蝇 2~3 级蛹的羽化率

Fig. 2 The eclosion of the 2nd-3rd level pupa of the *Bactrocera minax* under temperature and time

时长对柑橘大实蝇 4 级羽化无显著交互作用 (P=0.819)。

在 10、15、20℃下短时 (2、4、8 h) 温和

低温下,柑橘大实蝇4级蛹的羽化率均显著提高(图3)。

3 小结与讨论

温度是影响昆虫种群生长发育的一个重要因子,每种昆虫的生长发育都有其最适温度范围,超出这一范围,就会对其生长和繁殖产生不利影响。柑橘大实蝇以蛹越冬,蛹长期适应低温而存活。所以,对于柑橘大实蝇来说,冬季高温(25℃)时,虽然群体能够发育并缩短发育历期(32~36 d)(罗禄怡和陈长凤,1987),但却以牺牲个体存活为代价(Dong et al.,2013)。因此,维持适当的低温利于柑橘大实蝇蛹保持较高羽化率(陈爱娥等,2014)。

表 3 温度和时长对柑橘大实蝇 4 级蛹的交互作用

Table 3 The interactions between temperature and time on the 4th level pupa of the *Bactrocera minax*

	-				
源 Source	III 型平方和 Type III sum of squares	df	均方 Mean square	F	Sig.
温度 Temperature	1 043.785	3	347.9282	15.1600	0.000
时长 Time	40.8543	2	20.4271	0.8900	0.417
温度×时长 Temperature×time	66.2109	6	11.0351	0.4808	0.819
误差 Error	1 101.618	48	22.9504		
总计 Total	2 252.468	59			

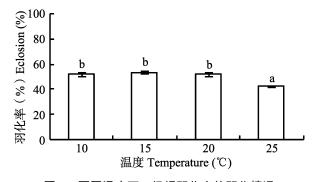


图 3 不同温度下 4 级蛹羽化率的羽化情况 Fig. 3 The eclosion of the 4th level pupa of *Bactrocera* minax under different temperature

对于柑橘大实蝇各级别的蛹来说,本研究设置的短时温和低温处理的羽化率均没有明显下降。反而在某特定的温和低温(1级蛹15 $^{\circ}$ 、20 $^{\circ}$,2~3级蛹10 $^{\circ}$ 、15 $^{\circ}$ 处理4h和8h,4级蛹10、15、20 $^{\circ}$)短时处理后,对其羽化率有提高的作用。可见,特定短时温和低温也利于柑

橘大实蝇 $1\sim4$ 级蛹的存活。这可能是短时的温和低温缓解了其对高温的适应代价。本实验中所用柑橘大实蝇蛹在 10° 下保存 150 多天,至外界温度高于其发育起点温度后移入 25° C发育至相应蛹级,温度跨度较大。实验设置温度 10、15、 20° ,既是温和低温,也可能类似于过渡温度。一些实蝇经过短期的低温或者高温过渡后,对低温和高温的耐受能力也会有一定程度的提高。如桔小实蝇 Bactrocera dorsalis、番石榴实蝇Bactrocera correcta 和南美斑潜蝇 Liriomyzahuidobrensis 经过过渡高温处理后,其对高温的耐受性均有提高(Huang et al., 2007;Hu et al., 2014)。

当高温发生后,短时温和低温则可对其高温 代价起缓解效应。那么,柑橘大实蝇蛹的室内保 藏,可于柑橘大实蝇 1~4 级蛹期对其进行适用的 短时温和低温处理以提高其存活。

本研究明确了柑橘大实蝇各级别蛹在短时温和低温下的羽化情况,结果可为柑橘大实蝇蛹的保藏、利用温度预测预报成虫的发生期和制定防控措施等提供依据。

参考文献 (References)

- Chen AE, Zheng WW, Zhang HY, 2014. Effects of temperature on eclosion of *Bactrocera minax*. *Journal of Environmental Entomology*, 36 (1): 12–16. [陈爱娥, 郑薇薇, 张宏宇, 2014. 温度与柑橘大实蝇羽化关系研究. 环境昆虫学报, 36(1): 12–16.1.
- Dong YC, Wang ZJ, Clarke AR, Pereira R, Desneux N, Niu CY, 2013. Pupal diapause development and termination is driven by low temperature chilling in *Bactrocera minax*. *Journal of Pest Science*, 86(3): 429–436.
- Huang DS, Xiao GZ, Yang YA, Wen JZ, 2007. Occurring, damage, and control technology of *Bactrocera minax*. *Plant Quarantine*, 21(4): 233–235. [黄大树, 肖桂章, 杨佑安, 文建再, 2007. 桃源县柑橘大实蝇的发生危害与防控技术. 植物检疫, 21(4): 233–235.]
- Hu JT, Chen B, Li ZH, 2014. Thermal plasticity is related to the hardening response of heat shock protein expression in two Bactrocera fruit flies. Journal of Insect Physiology, 67: 105–113.

- Huang LH, Chen B, Kang L, 2007. Impact of mild temperature hardening on thermotolerance, fecundity, and Hsp gene expression in *Liriomyza huidobrensis*. *Journal of Insect Physiology*, 53(12): 1199–1205.
- Luo LY, Chen CF, 1987. The biological property of *Bactrocera minax* (Enderlein) pupa. *Chinese Citrus*, 4(3): 9–10. [罗禄怡, 陈 长凤, 1987. 柑橘大实蝇蛹的生物学特性. 中国柑橘, 4(3): 9–10.1
- The Announcement of the Ministry of Agriculture of the People's Republic of China, 2006. NO. 617, March 2, 2006. [中华人民共和国农业部公告. 第 617 号, 2006 年 3 月 2 日.]
- Wang XJ, Luo LY, 1995. Research progress in Chinese citrus fruit fly. *Entomology Knowledge*, 32 (5): 310–311. [汪兴鉴, 罗禄怡, 1995. 橘大实蝇的研究进展. 昆虫知识, 32(5): 310–311.].
- Xiao GZ, Huang DS, Yang YA, Pei Y, 2007. Study on occurrence regularity and control methods of citrus fruit fly in new district. China Plant Protection, 27(2): 22–24. [肖桂章, 黄大树, 杨佑安, 裴艳, 2007. 柑橘大实蝇传入新区后的发生规律及防控方法探讨. 中国植保导刊, 27(2): 22–24.]
- Zhao YC, Guo SZ, Zhang ZM, 2002. The observation on the emergence of adults and the mortality of overwintering pupa of *Bactrocera (Tetradacus) minax* (Enderlein). *Plant Quarantine*, 16(6): 339–340. [赵毓潮,郭士占,张植敏, 2002. 柑橘大实蝇成虫羽化期和越冬蛹死亡率的观察. 植物检疫, 16(6): 339–340.]