

低温处理对花斑花绒寄甲卵储藏及孵化率的影响

陈元生¹,陈胜魁²,于海萍¹,罗致迪¹,刘兴平^{3*}

(1.江西环境工程职业学院,江西 赣州 341000; 2.赣州市林业科学研究所,江西 赣州 341000;

3.江西农业大学,江西 南昌 330045)

摘要:为了明确储藏温度、储藏时间及孵化温度对花斑花绒寄甲卵孵化率的影响,采用5、7.5、10、12.5、15℃低温储藏和20、26、32℃诱导孵化相结合方法对花斑花绒寄甲卵的孵化率进行了研究。结果显示:5℃低温不适合储藏花绒寄甲卵,其会致使孵化率显著降低($P < 0.05$),其他低温(7.5~15℃)都可以用于储藏花绒寄甲卵,储藏70 d内,不会降低卵活力,孵化率与对照(未低温处理)差异不大;储藏70 d内,储藏时间对卵的孵化率没有显著影响($P > 0.05$);诱导孵化的温度对花绒寄甲卵的孵化率存在显著影响,同一低温储藏的卵,20℃条件下的孵化率最高,与26℃、32℃下的差异达显著水平($P < 0.05$);总体上,20℃条件下的孵化高峰期为8~12 d,26℃的高峰期为7~11 d,32℃的高峰期为5~8 d;同一天内卵的孵化率与孵化时间存在极显著相关性($P < 0.01$),早上的孵化率极显著高于中午和傍晚。花斑花绒寄甲卵的最佳储藏温度为10℃,最佳孵化温度为20℃,储藏时间应在70 d内,在此条件下,孵化期为5~14 d,孵化高峰期为8~12 d,即卵卡应在取出后5~8 d释放于林间。野外释放卵卡也应在平均气温达20℃时释放,此时卵的孵化率及寄生率最高。

关键词:花绒寄甲;卵;孵化率;储藏时间;储藏温度;孵化温度;孵化节律

中图分类号:S763.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1004-3268(2018)01-0073-05

Effects of Low Temperature Treatment on Storage and Hatchability of Eggs of *Dastarcus helophoroides*

CHEN Yuansheng¹, CHEN Shengkui², YU Haiping¹, LUO Zhidi¹, LIU Xingping^{3*}

(1. Jiangxi Environmental Engineering Vocational College, Ganzhou 341000, China;

2. Ganzhou Institute of Forestry, Ganzhou 341000, China;

3. Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: In order to determine the influence of storage temperature, storage time and incubation temperature on hatchability of *Dastarcus helophoroides* eggs, the hatchability of the eggs was studied by cryopreservation at 5, 7.5, 10, 12.5, 15℃ and incubation at 20, 26, 32℃. The results showed that the low temperature of 5℃ was not suitable for preserving the eggs of *Dastarcus helophoroides*, because it caused the hatching rate to decrease significantly ($P < 0.05$). Other low temperatures of 7.5—15℃ could be used to preserve the eggs, preservation within 70 days would not reduce egg viability, and there was no obvious difference between the hatchability of these tests and the control (no hypothermia treatment). Storage time had no significant effect on egg hatching rate within 70 days ($P > 0.05$). The incubation temperature also had significant influence on the hatching rate of the eggs, stored at the same low temperature, the hatching rate of the eggs under the condition of 20℃ was the highest, which showed significant difference from the hatchability under 26℃ and 32℃ ($P < 0.05$). The period of hatching

收稿日期:2017-07-21

基金项目:国家自然科学基金项目(31760106);江西省科技计划项目(20151BBF60069);江西省科技计划重大项目(20143ACF60005);江西省林业科技创新项目(201409)

作者简介:陈元生(1967-),男,江西信丰人,教授,博士,主要从事昆虫生物学和森林病虫害防治研究。

E-mail:cys0061@163.com

*通讯作者:刘兴平(1975-),男,江西万安人,副教授,博士,主要从事昆虫生物学研究。E-mail:jxaulp@163.com

peak was the eighth day to the twelfth day under 20 °C, and that of 26 °C was the seventh day to the eleventh day, and that of 32 °C was the fifth day to the eighth day. The hatching time of eggs was highly significantly correlated with the hatching rate on the same day ($P < 0.01$), and the hatchability in the morning was significantly higher than that in the noon and evening. In conclusion, the optimum storage temperature for the eggs of *Dastarcus helophoroides* was 10 °C, the optimum incubation temperature was 20 °C, and the storage time should be within 70 days. Under these conditions, the hatching period was the fifth day to the fourteenth day, and the peak hatching period was the eighth day to the twelfth day, that was to say, the egg card should be released to forest at the fifth to the eighth days after being taken out from low temperature. The egg cards should be released at an average temperature of 20 °C in the field, when the hatching rate and parasitism rate of eggs were the highest.

Key words: *Dastarcus helophoroides*; Egg; Hatchability; Storage time; Storage temperature; Incubation temperature; Hatching rhythm

花绒寄甲 [*Dastarcus helophoroides* (Fairmaire)], 又名花绒坚甲、花绒穴甲, 属鞘翅目寄甲科 (Bothrideridae)^[1]。花绒寄甲在我国分布于北纬 22°26' ~ 42°32' 较为广大范围内^[2], 其寄主主要是天牛类昆虫。寄生松褐天牛的生物型为花斑花绒寄甲^[3], 其以幼虫寄生于松褐天牛的老龄幼虫和蛹上, 是对松褐天牛有效的重要寄生性天敌, 对控制松褐天牛及松材线虫病的发生与危害有较大的作用^[1,4-5]。

自然界中, 花斑花绒寄甲种群数量较小, 其成虫的分布格局多表现为聚集分布中的核心分布型, 分布不均匀, 扩散能力弱, 较难有效控制松褐天牛^[6-7]。所以只有通过人为释放大量花绒寄甲、人为扩散花绒寄甲的分布来补充林间天敌的种群数量, 才能达到良好的控制效果。应用花斑花绒寄甲防治松褐天牛, 在野外主要是通过悬挂花绒寄甲卵卡或者释放成虫来实现。释放花绒寄甲卵卡与释放成虫相比, 不需用活体寄主将其饲养至成虫, 减少了花绒寄甲幼虫繁育及蛹和成虫繁育保存过程, 即能够显著降低繁殖和利用成本^[8]。但另一个问题是, 采用释放卵的方式防治天牛时需要积累一定数量的花绒寄甲卵, 即这些卵需要低温贮藏一定时间, 然而在积累和贮藏时, 这些卵的孵化力可能会发生变化。明确花绒寄甲卵孵化率, 可为野外试验中确定卵卡释放量、释放时间, 乃至进一步评价该天敌昆虫提供依据^[9]。因此, 要利用花绒寄甲卵必须研究卵的贮藏技术, 了解低温处理对花绒寄甲卵孵化率的影响, 明确卵卡释放量、释放时间, 以提高花绒寄甲卵卡的释放效果及其控制效果。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试昆虫为松褐天牛生物型花绒寄甲即花斑花

绒寄甲, 采自江西省赣州市峰山国家森林公园, 试验用虫为室内人工繁育的第 1 代。

花绒寄甲成虫及卵的养虫盒为 18 cm × 11.5 cm × 7.5 cm 的塑料盒。

试验培养箱为智能型光照培养箱 GXZ - 250A (宁波江南仪器厂), 光照强度为 500 ~ 700 lx, 箱内的温度变化为 ±0.5 °C。

1.2 试验方法

1.2.1 低温处理对花绒寄甲卵活力的影响试验
卵卡制作参照张翌楠^[3]的方法, 将刚产下的卵粒制作成卵卡, 每个卵卡上卵粒数为 100 粒左右, 然后把卵卡分别置于上述养虫盒内(盒内放置保湿棉球, 以防卵失水而死), 标注日期, 置于 5、7.5、10、12.5、15 °C 培养箱(湿度 55%、无光照)储藏, 每处理 45 个卵卡, 储藏 5 d 后开始每隔 5 d 检查卵的存活情况, 方法是: 从每个低温处理中随机选取 3 个卵卡, 分别放入 20、26、32 °C 培养箱内诱导孵化, 每天观察、记录其孵化情况, 统计孵化率, 以确定最佳储藏温度和时间。对照(CK)设置为不经低温处理的卵, 直接放入培养箱内孵化。

1.2.2 花绒寄甲卵卡释放时间及孵化节律测定
将刚产下的卵粒制成卵卡, 记录卵卡制作时间, 然后把卵卡存放在 10 °C、湿度 55% 的环境下储藏, 储藏 5 d 后开始每隔 5 d 检查卵的存活及孵化率、孵化时间, 方法是: 每隔 5 d 从 10 °C 低温中随机选取 1 个卵卡, 放入室外(5—7 月), 让其自然孵化, 每天早上(8:10)、中午(12:00)、傍晚(17:30)观察、记录其孵化情况, 统计孵化率, 以确定其孵化节律及最佳野外释放时间。

1.3 试验数据分析

应用 SPSS 13.0 统计软件进行方差分析(one-way ANOVA)、*t* 检验和线性回归分析。

2 结果与分析

2.1 低温处理对花绒寄甲卵活力的影响

花绒寄甲卵分别经低温5、7.5、10、12.5、15℃储藏5~70 d后置于20℃下诱导孵化,结果见表1。采用方差分析及线性相关分析显示,20℃下花绒寄甲卵的孵化率与储藏时间的相关系数 $r = -0.206$, $F = 0.394$, $P = 0.967 > 0.05$,表明两者间不存在显著相关性。26、32℃下诱导的孵化率结果与此类似。说明70 d内储藏时间对卵的孵化率、卵活力没有显著影响。

而储藏温度及诱导孵化温度均对花绒寄甲卵活力存在显著影响。由表2可知,在相同诱导孵化温度下,5℃低温储藏的卵平均孵化率最低,与其他

储藏温度的差异达显著水平,其次是7.5℃储藏的平均孵化率,在20℃下与其他储藏温度的差异也达显著水平,在26、32℃下虽较其他储藏温度的孵化率略低,但差异不显著,低温10、12.5、15℃储藏的卵平均孵化率与未经低温处理的对照差异不显著(12.5℃储藏的卵在32℃下孵化除外),这表明,低温7.5~15℃条件下均可储藏花斑花绒寄甲卵,对其卵活力影响不大。由表2还可知,诱导孵化的温度对花绒寄甲卵的孵化率也存在显著影响,在同一储藏温度下,20℃条件下的孵化率最高,与26、32℃下的差异达显著水平,而后两者的差异不显著。综合以上结果说明,最有利于花绒寄甲卵储藏及孵化的条件是,在10℃低温下储藏,然后置于20℃条件下孵化。

表1 经低温储藏一定时间后置于20℃下花绒寄甲卵的孵化率

储藏时间/d	储藏温度/℃					CK
	5	7.5	10	12.5	15	
5	22.09	55.41	76.21	67.03	65.33	69.16
10	16.17	56.06	58.74	56.22	71.48	71.32
15	18.13	62.56	75.61	70.57	68.12	69.09
20	17.07	54.95	64.09	64.24	67.02	68.76
25	20.53	62.03	75.12	78.88	81.82	66.25
30	24.02	63.33	77.21	72.78	61.17	62.03
35	22.62	67.67	79.04	56.11	59.12	66.67
40	14.08	51.05	67.14	63.09	68.79	72.02
45	15.25	41.23	73.53	70.66	55.17	59.84
50	19.09	61.17	54.07	74.05	60.78	56.57
55	17.12	53.14	71.76	62.33	63.61	52.19
60	18.52	46.52	70.01	61.69	56.21	51.01
65	17.06	47.14	62.12	50.06	57.53	53.67
70	12.23	50.69	57.26	51.17	54.04	51.35
平均	18.14	55.21	68.71	64.21	63.57	62.14

表2 低温储藏后不同孵化温度下花绒寄甲卵的孵化率

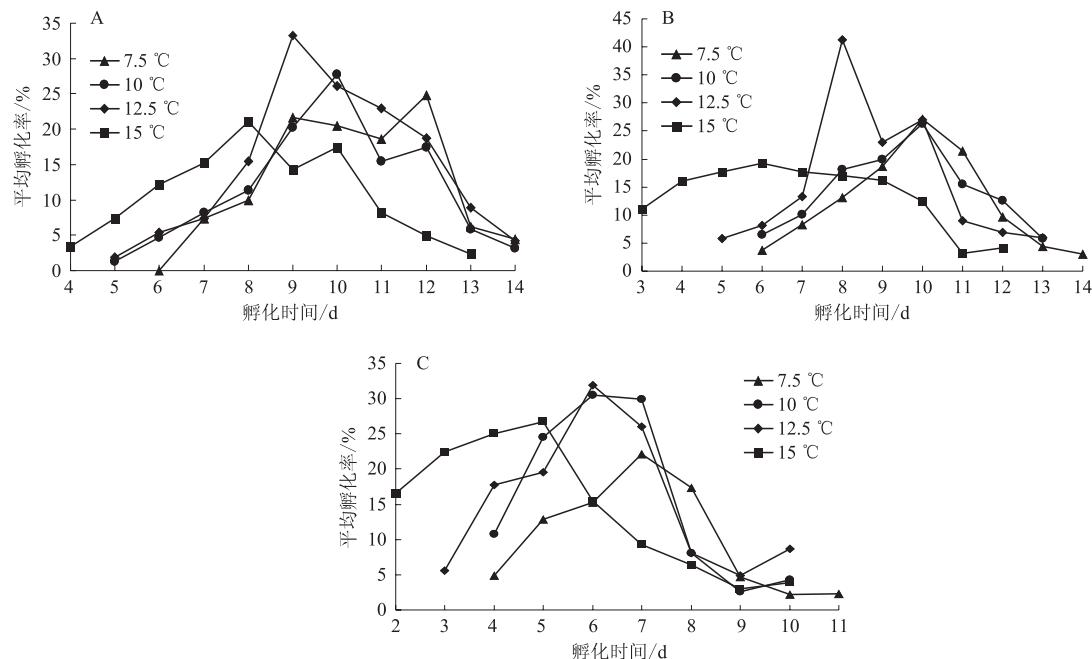
储藏温度/℃	孵化温度/℃		
	20	26	32
5	18.14 ± 3.33 Aa	12.11 ± 3.75 Ba	12.64 ± 3.59 Ba
7.5	55.21 ± 7.53 Ab	43.56 ± 11.84 Bb	44.21 ± 6.39 Bb
10	68.71 ± 8.18 Ac	47.44 ± 14.03 Bb	47.71 ± 10.69 Bbc
12.5	64.21 ± 8.71 Ac	45.00 ± 16.20 Bb	45.50 ± 10.35 Bb
15	63.57 ± 7.56 Ac	52.22 ± 11.52 Bb	50.14 ± 14.64 Bbc
CK	62.14 ± 7.88 Ac	57.22 ± 13.41 ABb	55.07 ± 6.31 Bc

注:同一行数据后不同大写字母表示不同孵化温度下差异显著($P < 0.05$),同一列数据后不同小写字母表示不同储藏温度下差异显著($P < 0.05$)。

2.2 经低温处理后花绒寄甲卵的孵化时间

将储藏在7.5、10、12.5、15℃的花绒寄甲卵每隔5 d取出一部分分别放入20、26、32℃培养箱内,记录其每天孵化率,获得平均孵化率与孵化时间(即从低温取出至开始孵化的时间)的关系。由图1可知,诱导孵化的温度越高、储藏温度越高,花绒寄甲卵的孵化时间越早,如储藏在15℃的卵放入

32℃培养箱后2 d即可孵化而且孵化率较高,达16.58%。另外,诱导温度不同,其孵化高峰期不同,温度越低,高峰期越晚,除低温15℃下储藏的卵外,7.5、10、12.5℃下储藏的花绒寄甲卵的孵化高峰期存在相似的规律:20℃条件下孵化高峰期为8~12 d,26℃高峰期为7~11 d,32℃高峰期为5~8 d。



A: 20 °C 条件下孵化; B: 26 °C 条件下孵化; C: 32 °C 条件下孵化
图 1 经低温处理后花绒寄甲卵的平均孵化率与孵化时间的关系

2.3 花绒寄甲卵卡孵化节律

由图 2 可知,一天内花绒寄甲卵的孵化率与孵化时间存在极显著相关性 ($F = 12.394, df = 2, 36, P = 0.000\ 08 < 0.01$), 早上(8:10)的孵化率极显著高于中午(12:00)和傍晚(17:30), 虽然中午的孵化率也高于傍晚,但两者的差异不显著。

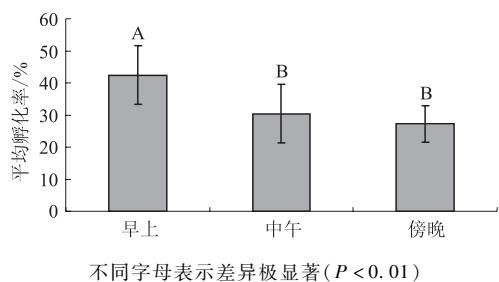


图 2 经低温处理后花绒寄甲卵的孵化节律

3 结论与讨论

利用花绒寄甲成虫防治松褐天牛具有良好的控制效果, 防效可达 66% 以上^[10-12]。但是多年来有效利用这一天敌的限制因素是人工批量繁殖成虫的成本较高^[8]。而释放花绒寄甲卵则不需用活体寄主将其饲养至成虫, 可以大大降低成本、缩短繁育周期^[13]。杨远亮等^[10]调查结果表明, 释放花绒寄甲卵与释放花绒寄甲成虫对松褐天牛具有同等防效, 两者差异不显著, 而且释放卵卡具有更高的寄生率, 控制效果也相对更稳定。卵卡的贮藏和释放技术、释放量、释放时间等是保证其防控效果的关键, 值得

深入研究。

关于花绒寄甲卵的储藏温度问题, 本试验结果显示, 储藏在 5 °C 低温的卵孵化率显著低于对照(未低温处理)和其他低温, 其平均孵化率分别为 20 °C 条件下 18.14%, 26 °C 条件下 12.11%, 32 °C 条件下 12.64%, 说明 5 °C 低温影响了卵活力, 不适于储藏花绒寄甲卵, 而 7.5 ~ 15 °C 低温均可储藏花绒寄甲卵, 对其卵活力影响不大, 多数情况下孵化率与对照的差异不显著, 以 10 °C 储藏最好。这一结果与李孟楼等^[8]研究的花绒寄甲卵在 5 °C 的低温条件下保存 49 d 不影响其正常孵化的结果不一致, 造成这一差异的可能原因之一是所采用的花绒寄甲寄主生物型不同, 本试验所采用的是寄生松褐天牛的花斑花绒寄甲, 而李孟楼等^[8]的试验对象是寄生光肩星天牛的花绒寄甲, 前者卵的发育起点温度 (16.34 °C) 比后者的高^[14], 两者的卵对低温的耐受能力是否不同, 还有待进一步研究。

关于花绒寄甲卵的储藏时间问题, 李孟楼等^[8]曾报道, 花绒寄甲卵在 5 °C 低温条件下保存 49 d 后不影响其孵化; 李晓娟等^[9]报道, 花绒寄甲卵在 8 °C 低温条件下保存 60 d, 平均校正孵化率为 36.93%, 保存 90 d, 孵化率为 0。这些与本试验结果基本一致。本试验结果显示, 在低于花斑花绒寄甲卵发育起点温度的 7.5 ~ 15 °C 下储藏 70 d, 储藏时间对其卵的孵化率没有显著影响。据此建议在花斑花绒寄甲卵的应用过程中, 储藏时间控制在 70 d 内为宜, 以确保孵化率和防治效果。

关于不同孵化温度下花绒寄甲卵的孵化率问题,本试验结果显示,诱导孵化的温度对花绒寄甲卵的孵化率存在显著影响,在同一储藏温度下,20 ℃条件下的孵化率最高,与26、32 ℃下的差异达显著水平,而后两者的差异不显著。这一结果与李孟楼等^[8]的报道基本一致,其发现在16~25 ℃内,19 ℃条件下的孵化率最高。这也与本试验所在地江西赣南的实际情况相符,该地花绒寄甲卵卡最佳释放时间是4月份,而4月的平均气温一般也在20 ℃左右,所以此时释放卵卡,卵孵化率最高。

关于卵卡经低温储藏后的释放时间问题,本试验结果显示,卵从低温取出置20 ℃条件下5 d左右开始孵化,但孵化高峰期为8~12 d,所以卵卡从低温取出后,应在第5天左右释放,最迟也须在第8天挂于林间目标树木上。如果气温高于20 ℃,那么释放时间则需提前1~2 d。

关于花绒寄甲卵卡释放量问题,首先要考虑的是卵的孵化率。本试验结果表明,花绒寄甲卵无论低温处理与否,其孵化率一般在45%~70%,野外的孵化率可能会稍低。其次,要考虑的是花绒寄甲幼虫爬行能力、搜寻能力和寄生能力以及木段上天牛幼虫数量。花绒寄甲卵卡释放量多少合适,目前没有一致的结论。张彦龙等^[11]认为,在伐倒死树上释放卵时,释放花绒寄甲卵的数量与天牛幼虫侵入孔数量比例应为16:1,其对松褐天牛的控制效果可达91.48%。而吴东生等^[15]认为,释放花绒寄甲卵防治松褐天牛最佳益害比例应为8:1,此时对松褐天牛寄生率达62.77%。李孟楼等^[8]则认为,只要条件适宜,每头天牛幼虫只需有15~25粒的花绒寄甲卵即可保证其被寄生。

关于经低温处理后花绒寄甲卵的孵化节律问题,本试验结果显示,花斑花绒寄甲的卵主要在早上孵化,早上(8:10)的孵化率极显著高于中午(12:00)和傍晚(17:30),这说明,花绒寄甲卵在8:10—17:30均可孵化,至于其夜间是否孵化及白天每小时的孵化情况,有待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 杨忠岐.利用天敌昆虫控制我国重大林木害虫研究进展[J].中国生物防治,2004,20(4):221-227.
- [2] 魏建荣,杨忠岐,牛艳玲,等.花绒寄甲的分布与生态学习性补充调查[J].中国森林病虫,2009,28(1):16-18.
- [3] 张翌楠.松褐天牛的天敌昆虫调查及生物防治技术研究[D].北京:中国林业科学研究院,2006:43-44.
- [4] 秦锡祥,高瑞桐.花绒坚甲生物学特性及应用研究[J].昆虫知识,1988,25(2):109-112.
- [5] 陈元生,李方兴,温德华.松褐天牛植物源引诱剂研究进展[J].河南农业科学,2014,43(4):5-10.
- [6] 李孟楼,李有忠,薛思林,等.花绒坚甲的分布型及其在天牛虫道内的生态位研究[J].西北林学院学报,2007,22(2):97-100.
- [7] 罗致迪,陈元生,于海萍,等.赣南花绒寄甲松树林间自然寄生率调查研究[J].环境昆虫学报,2015,37(5):1070-1074.
- [8] 李孟楼,李有忠,雷琼,等.释放花绒寄甲卵对光肩星天牛幼虫的防治效果[J].林业科学,2009,45(4):78-82.
- [9] 李晓娟,董广平,张彦龙,等.保存时间及模拟降雨对花绒寄甲卵野外孵化率的影响[J].中国森林病虫,2012,31(3):33-35.
- [10] 杨远亮,杨忠岐,王小艺,等.应用花绒寄甲防治松褐天牛[J].林业科学,2013,49(3):103-109.
- [11] 张彦龙,杨忠岐,张翌楠,等.利用花绒寄甲防治越冬后松褐天牛试验[J].林业科学,2014,50(3):92-98.
- [12] 温小遂,廖三腊,孙计拓,等.林间释放花绒寄甲对松褐天牛防效的研究[J].江西农业大学学报,2016,38(3):505-510.
- [13] 雷琼,李孟楼,杨忠岐.花绒坚甲的生物学特性研究[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2003,31(2):62-66.
- [14] 宋墩福,陈元生,涂小云.花绒寄甲赣南种群发育起点温度与有效积温研究[J].中国植保导刊,2015,35(6):58-60,44.
- [15] 吴东生,高尚坤,唐艳龙.释放天敌防治松褐天牛技术研究[J].中国森林病虫,2017,36(2):10-12,15.