

柑橘大实蝇雌成虫卵巢发育的分级

刘颖¹ 徐鹏辉¹ 陈舟¹ 李萍² 牛长缨¹

1. 华中农业大学植物科学技术学院, 武汉 430070; 2. 全国农业技术推广服务中心, 北京 100125

摘要 在显微镜下观察柑橘大实蝇 *Bactrocera minax* (Enderlein) 雌成虫自羽化后不同日龄的卵巢形态特征, 测量并统计卵巢长度、卵巢宽度、卵巢指数、卵泡长度和卵巢成熟卵量等指标, 根据卵巢形态特征和卵巢发育程度进行等级划分。结果表明, 柑橘大实蝇雌虫卵巢发育进度可分为5个等级: 雌虫羽化后1~10 d 卵巢发育为I级(卵巢发育初期); 10~18 d 为II级(卵黄沉积期); 18~23 d 为III级(成熟待产期); 23~33 d 为IV级(产卵盛期); 羽化33 d 后为V级(产卵末期)。

关键词 柑橘大实蝇; 卵巢发育; 卵巢形态; 分级标准

中图分类号 S 451.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2015)01-0033-05

柑橘大实蝇 *Bactrocera minax* (Enderlein) 属双翅目实蝇科, 是柑橘类果树上的重要害虫^[1-3]。柑橘大实蝇成虫羽化后需补充营养, 性成熟后交配并产卵于柑橘果实内, 造成虫果未熟先黄或未熟先落^[4]。近年来, 随着柑橘产业发展, 果品调运频繁, 柑橘大实蝇发生日趋严重, 但目前生产实践中尚缺乏有效的预测预报方法。

实蝇类成虫具有补充营养的习性, 摄取蛋白质供卵黄生成和卵巢发育^[5]。对橘小实蝇 *Bactrocera dorsalis* (Hendel)^[6]、加勒比按实蝇 *Anastrepha suspense* (Loew)^[7] 及东澳番茄实蝇 *Bactrocera cacuminata* (Hering)^[8] 的生殖发育研究表明, 根据卵巢发育程度可判断害虫生理状态, 分析害虫种群年龄结构, 以及监测害虫田间发生动态, 为确定最佳防治适期提供理论依据。实蝇卵巢发育除受环境因素和自身生理状态影响外, 还与寄主植物有紧密联系。Fletcher 等^[9] 的研究表明, 外界环境条件(高温和低温)能抑制橄榄实蝇 *Dacus oleae* (Gmelin) 卵巢发育, 而寄主果实能刺激雌成虫卵巢发育。此外, 卵巢发育还影响雌虫觅食和产卵行为, 如瓜实蝇 *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) 成虫在卵巢发育成熟前主要表现为搜寻食物和补充营养, 卵巢成熟后开始搜寻寄主进行产卵繁殖^[10]。

通过解剖雌成虫卵巢, 确定卵巢发育进度, 是

害虫种群监测中比较可靠的预测预报方法。实蝇类昆虫的卵巢发育分级一般可通过卵巢的形态特征等参数来确定, 如卵巢长度、卵巢宽度、卵泡长度和成熟卵量等^[7, 11], 但目前尚无柑橘大实蝇卵巢发育分级的相关报道。研究柑橘大实蝇雌成虫卵巢的发育进度, 对柑橘大实蝇的预测预报和探索新的防控措施等均具有重要意义。卵巢发育分级可作为判断柑橘大实蝇雌成虫性是否成熟的指标, 并可为柑橘大实蝇的预测预报提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

柑橘大实蝇蛹采自湖北省宜昌市夷陵区柑橘园, 2012年4月30日将采集回的蛹均匀置于细沙中待其羽化。将羽化后的柑橘大实蝇以雌雄性比1:1饲养在养虫笼中, 用人工饲料进行饲养。饲养条件: 光周期 L/D=14/10 h, 相对湿度 50%~60%, 温度(25±1)℃。

1.2 卵巢形态观察

在尼康显微镜(Nikon SMZ-10, Japan)下解剖柑橘大实蝇羽化后1~45日龄雌成虫, 观察并测量卵巢长度、卵巢宽度和卵泡长度3个形态特征, 计算卵巢指数(卵巢长度×卵巢宽度), 并用昆虫针将卵巢挑开, 在显微镜下统计卵巢内成熟卵量。

收稿日期: 2014-05-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(31371945); 湖北省研究与开发计划项目(HZH0051); 2014年农业部农作物病虫害鼠害疫情监测与防治项目; 华中农业大学研究生优质课程建设项目(2011KC01)

刘颖, 硕士研究生. 研究方向: 昆虫生理生化与分子生物学. E-mail: liuyinghappy2009@163.com

通信作者: 牛长缨, 博士, 教授. 研究方向: 昆虫生理生化与分子生物学. E-mail: niuchangying88@163.com

1.3 数据处理

利用 SPSS(16.0, USA)对柑橘大实蝇卵巢发育等级相关参数进行单因素方差分析,并通过 Tukey's HSD 进行多重比较。通过 SPSS 16.0 对柑橘大实蝇各发育等级的卵巢长度、卵巢宽度、卵巢指数、卵泡长度及成熟卵量指标进行相关性测定和双尾检验。

2 结果与分析

2.1 柑橘大实蝇卵巢发育特征

在室内条件下解剖并观察柑橘大实蝇雌成虫卵巢。观察结果表明:1~10 日龄雌虫卵巢较小,此

时卵巢长度约等于卵巢宽度;10~18 日龄卵巢终端卵泡内卵黄开始积累,卵巢长度比 1~10 日龄的长,卵巢宽度也较宽;18~23 日龄卵巢指数和卵泡长度与之前日龄相差不大,但其形态特征更明显,卵黄充满整个终端卵泡体积的 50%;23 日龄卵巢内首次观察到成熟卵粒,而 30 日龄卵巢内成熟卵量达到最多,此时卵巢长度、卵巢宽度、卵巢指数、卵泡长度和成熟卵量比之前有明显变化;33 日龄雌虫产卵后卵巢内至少存在一个残余的卵壳,随着日龄增长,卵巢长度、卵巢宽度、卵巢指数、卵泡长度和成熟卵量呈下降趋势(表 1)。

表 1 柑橘大实蝇成虫各发育等级的卵巢特征¹⁾

Table 1 Ovarian character at each developmental stage in *Bactrocera minax* (Enderlein)

等级 Stage	头数 Number	日龄/d Age	卵巢长度/mm Ovary length	卵巢宽度/mm Ovary width	卵巢指数/mm ² Ovarian index	卵泡长度/mm Follicle length	成熟卵粒数 Mature eggs
I	30	1~10	0.52±0.09 a	0.37±0.08 a	0.20±0.07 a	0.14±0.05 a	0.00±0.00 a
II	32	10~18	0.78±0.12 b	0.53±0.11 b	0.42±0.15 ab	0.29±0.12 b	0.00±0.00 a
III	31	18~23	1.02±0.22 c	0.66±0.18 c	0.70±0.37 b	0.42±0.23 b	0.00±0.00 a
IV	25	23~33	1.92±0.32 e	1.03±0.20 e	2.02±0.64 d	1.27±0.20 d	22.08±14.82 c
V	40	33~45	1.61±0.46 d	0.83±0.12 d	1.36±0.50 c	1.00±0.37 c	8.08±8.93 b

1)同列数值后不同字母表示在 1%水平上差异显著($P<0.01$)。

The data within the same letters in the same column are not significantly different at the level of 1% ($P<0.01$).

2.2 卵巢发育分级

通过在显微镜下解剖柑橘大实蝇卵巢,观察记录卵巢长度、卵巢宽度、卵巢指数、卵泡长度及成熟卵量等指标,并根据卵巢长度和卵巢宽度指标的统计分析结果,可将柑橘大实蝇雌虫卵巢发育划分为 5 个等级,即 I 级(卵巢发育初期)、II 级(卵黄沉积期)、III 级(成熟待产期)、IV 级(产卵盛期)及 V 级(产卵末期)。

I 级为卵巢发育初期,包括 1~10 日龄雌成虫卵巢,此时卵巢很小,呈乳白色絮状,卵巢长度约等于卵巢宽度(图 1-A)。卵巢长度与卵巢宽度呈正相关($r^2=0.591$),卵巢指数与卵巢长度($r^2=0.846$)及卵巢宽度($r^2=0.918$)都呈正相关。另外,卵泡长度与卵巢长度($r^2=0.623$)、卵巢宽度($r^2=0.371$)、卵巢指数($r^2=0.510$)分别呈显著相关(表 1)。在卵巢发育初期(1~6 日龄)几乎观察不到卵泡,但在卵黄形成晚期(7~10 日龄)可以观察到,卵泡长度为 0.35~0.71 mm。

II 级为卵黄沉积期,指 10~18 日龄雌成虫的卵巢,此时终端卵泡内卵黄开始累积,卵巢比 I 级大,即卵巢长度比 I 级长,卵巢宽度也比 I 级宽(图

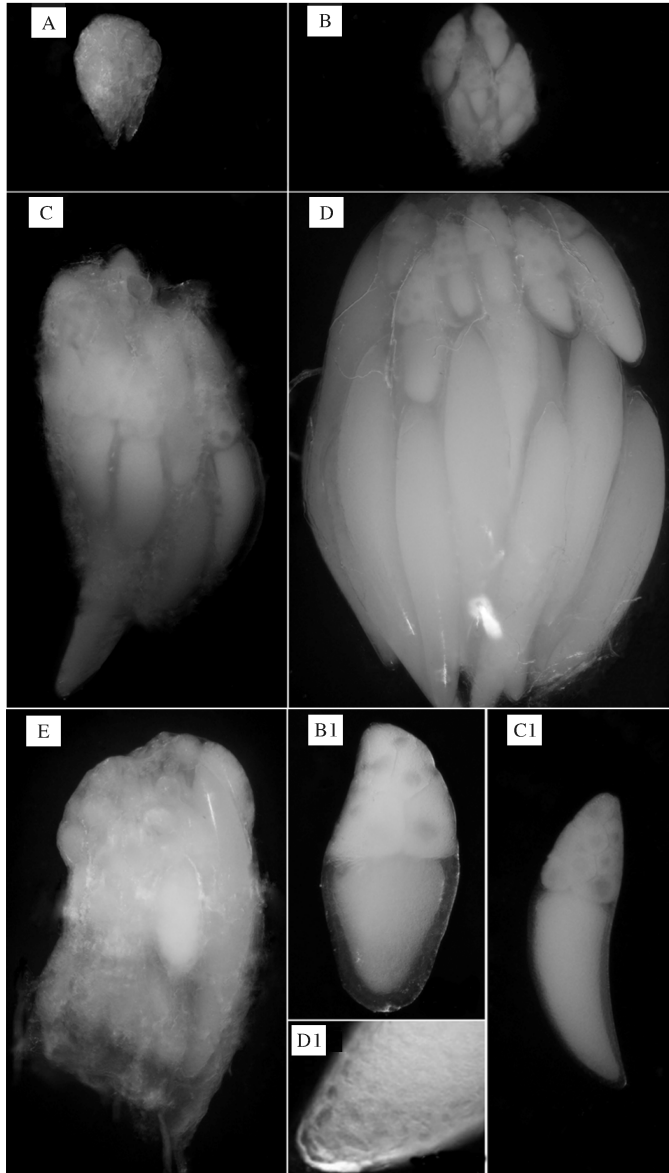
1-B)。卵巢长度与卵巢宽度呈显著正相关($r^2=0.673$),卵泡长度与卵巢长度($r^2=0.733$)、卵巢宽度($r^2=0.687$)、卵巢指数($r^2=0.809$)分别呈正相关(表 1)。

III 级为成熟待产期,包括 18~23 日龄雌成虫的卵巢,此时卵巢指数和卵泡长度与 II 级相差不大,但所有形态特征比 I 级、II 级更明显,其内卵黄含量充满整个终端卵泡体积的 50%,这一特征使 III 级与 II 级更易区分(图 1-C)。与 II 级相比,卵巢长度和卵巢宽度($r^2=0.849$)呈更显著正相关,其他指标彼此呈正相关(表 1)。因为这 3 个等级卵巢的成熟卵量均为 0,所以 I 级、II 级和 III 级雌成虫个体尚未性成熟。

IV 级为产卵盛期,包括 23~33 日龄卵巢,在 23 日龄雌成虫卵巢中首次观察到白色成熟的卵粒,30 日龄时成熟卵量最大(图 1-D)。此等级所有指标都比其他等级大,成熟卵量与卵巢长度($r^2=0.674$)、卵巢宽度($r^2=0.802$)、卵巢指数($r^2=0.815$)分别呈显著正相关,但与卵泡长度不呈正相关,且该等级卵泡长度与其他测量值不存在相关性(表 1)。

V级为产卵末期,包括 33~45 日龄卵巢,其特征是 33 日龄雌虫产卵后卵巢内至少存在一个残余的卵壳。与IV级相比,该等级柑橘大实蝇卵巢有很大变化,平均成熟卵量波动幅度很大,但整体上随着日龄增长呈现下降趋势。柑橘大实蝇其他形态特征也呈现相同的趋势,如卵巢长度与卵巢指数等。

观察还表明,随着日龄增长,柑橘大实蝇卵巢的发育不同步,特别是在V级末期,与低日龄的柑橘大实蝇相比呈现不规则趋势。V级柑橘大实蝇卵巢的各个形态指标之间呈显著相关,如卵巢指数与卵巢长度($r^2 = 0.937$)、成熟卵量与卵巢长度($r^2 = 0.807$)等(表 1)。



A: I级,卵巢发育初期,呈乳白絮状; B: II级,卵黄开始沉积,B1表示一个放大的卵泡细胞,顶端有滋养细胞提供营养; C: III级,成熟待产期,可见接近成熟的卵粒,此时卵黄占卵泡细胞体积一大半(C1); D: IV级,产卵盛期,乳白色成熟卵粒表面有完整的绒毛膜,在高倍镜下可见末端的网状结构(D1); E: V级,产卵末期,卵巢基部有残余的卵壳;图 A~E、B1、C1 在 40 倍镜下拍摄,图 D1 在 100 倍镜下拍摄。A: I, previtellogenic developmental stage; B: II, yolk deposition stage, B1 enlarged follicle containing a yolk-filled oocyte capped with trophocytes; C: III, expectant stage of mature eggs, the almost mature eggs at which point yolk occupies more than half the follicle (C1); D: IV, the peak stage of oviposition characterized by an intact chorion with a reflective surface and a reticulated pattern visible at high magnification (D1); E: V, the last stage of oviposition, confirmed by presence of residual follicular bodies at the base of the ovary; Images A-E, B1, C1 at 40 magnification and image D1 at 100 magnification.

图 1 柑橘大实蝇雌成虫卵巢发育的 5 个等级

Fig. 1 Five stages of ovarian development in female adult of *Bactrocera minax* (Enderlein)

3 讨论

卵巢是实蝇生殖产卵的重要器官。根据卵巢形态特征可进行卵巢发育分级,从而掌握和判别卵巢发育进度,以开展相关研究和进行预测预报^[12]。本试验通过显微镜观察解剖柑橘大实蝇雌成虫卵巢,统计卵巢长度、卵巢宽度、卵巢指数、卵泡长度和卵巢成熟卵量等指标,根据卵巢长度和卵巢宽度的差异,将柑橘大实蝇卵巢发育进度分为卵巢发育初期、卵黄沉积期、成熟待产期、产卵盛期、产卵末期5个等级。试验结果表明,柑橘大实蝇卵巢长度先增长,卵巢宽度后增长,且前者增长速率显著大于后者。卵巢长度与卵巢宽度可单独作为卵巢性成熟与否的划分标准,这与 Kendra 等^[7]在对加勒比按实蝇 *Anastrepha suspense* (Loew) 进行研究得出的结果相同,即卵巢长度是区分其未性成熟和性成熟的最佳参数。在性成熟阶段,根据4个特征的测量值,结合成熟卵量,可明确区分Ⅳ和Ⅴ级。根据文献记载,卵巢长度、卵巢宽度和卵巢指数均可评估雌成虫是否性成熟^[13-15],运用这些指标能区分雌成虫性是否成熟的个体。Nation^[13]和Aluja等^[16]的研究结果表明,卵巢内成熟卵粒的存在是雌虫性成熟的重要指标。本试验在23日龄柑橘大实蝇雌性个体中首次发现成熟卵粒,随后有成熟卵粒的柑橘大实蝇数目急剧增加,并在30日龄时达到最大值,之后绝大多数雌性个体卵巢内至少有1粒成熟卵。

柑橘大实蝇在羽化后,从性成熟到产卵过程中,其生理和行为特征会发生大幅变化。成虫羽化后需要补充营养才能促进性成熟,首先表现为野外大量觅食行为,性成熟后转换为成虫交配和产卵行为。本试验结果表明,雌虫卵巢发育到Ⅳ级后,即从前期的觅食为主的行为转换为求偶交配和产卵行为。雌成虫生理年龄为23~33日龄时平均成熟卵量最大,之后成熟卵量有所波动。Ⅴ级卵巢中,有33%的雌虫卵巢中没有成熟卵粒,这可能是因为有些雌虫已完成产卵。

柑橘大实蝇在羽化时尚未达到性成熟,需要在野外觅食,东澳番茄实蝇 *Bactrocera cacuminata* (Hering) 和加勒比按实蝇需要近1个月的时间才达到性成熟^[7,17],这与柑橘大实蝇常在羽化后约23d进入性成熟期的情况基本相同,但与张维等^[18]的结论不一致,即柑橘大实蝇在蛹期已经完成卵巢发育。Webster等^[19]和Drew^[20]的研究表明,实蝇雌虫需

要蛋白饲料以确保卵的形成,且蛋白含量影响卵巢发育进度。

柑橘大实蝇卵巢发育等级的确定可作为判断雌成虫性是否成熟的指标,并为柑橘大实蝇的预测预报和探索新的防控措施提供科学依据。卵巢发育为Ⅰ级、Ⅱ级和Ⅲ级的柑橘大实蝇雌成虫尚未达到性成熟,此时主要表现为觅食,在此阶段可应用蛋白诱饵等诱剂对其进行诱杀^[21];而Ⅳ级和Ⅴ级的雌成虫已达到性成熟,觅食量大大减少,主要进行交配和产卵,此时可结合性信息素等诱杀成虫,以达到最佳防治效果。

参 考 文 献

- [1] DONG Y C, WANG Z J, ANTHONY R, et al. Pupal diapause development and termination is driven by low temperature chilling in *Bactrocera minax* [J]. J Pest Sci, 2013, 86: 429-436.
- [2] 王金涛,董永成,李宗镛,等.昆虫不育技术防治柑橘大实蝇研究概况[J].应用昆虫学报,2013,50(3):848-852.
- [3] 李宗镛,周晓渭,杨风连,等.柑橘大实蝇成虫口器扫描电镜观察[J].植物检疫,2013,27(2):57-59.
- [4] 李宗镛,董永成,朱景全,等.柑橘大实蝇产卵器的结构及形态观察[J].环境昆虫学报,2014,36(1):78-82.
- [5] HARWOOD J F, CHEN K, MULLER H G, et al. Effects of diet and host access on fecundity and lifespan in two fruit fly species with different life-history patterns [J]. Physiol Entomol, 2013, 38: 81-88.
- [6] CHOU M Y, MAU R F L, JANG E B, et al. Morphological features of the ovaries during oogenesis of the Oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis*, in relation to the physiological state [J]. J Insect Sci, 2012(12): 1-12.
- [7] KENDRA P E, MONTGOMERY W S, EPSKY N D, et al. Assessment of female reproductive status in *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae) [J]. Fla Entomol, 2006, 89(2): 144-151.
- [8] RAGHU S, HALCOOP P, Drew A I. Apodeme and ovarian development as predictors of physiological status in *Bactrocera cacuminata* (Hering) (Diptera: Tephritidae) [J]. Aust J Entomol, 2003, 42: 281-286.
- [9] FLETCHER B S, PAPPAS S, KAPATOS E. Changes in the ovaries of olive flies *Dacus oleae* (Gmelin) during the summer, and their relationship to temperature, humidity and fruit availability [J]. Ecol Entomol, 1978(3): 99-107.
- [10] SIDERHURST M S, JANG E B. Cucumber volatile blend attractive to female melon fly, *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett) [J]. J Chem Ecol, 2010, 36(7): 699-708.
- [11] 陈敏,陈鹏,叶辉,等.橘小实蝇卵巢形态结构及发育特征研究[J].环境昆虫学报,2014,36(1):83-88.

- [12] 李汝铎,王金其,苏德明. 昆虫卵巢发育与害虫预测预报[M]. 上海:复旦大学出版社,1987.
- [13] NATION J L. Courtship behavior and evidence for a sex attractant in the male Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa* [J]. Ann Entomol Soc Amer, 1972, 65: 1364-1367.
- [14] DODSON G. Morphology of the reproductive system in *Anastrepha suspensa* (Loew) and notes on related species [J]. Fla Entomol, 1978, 61: 231-239.
- [15] KENDRA P E, MONTGOMERY W S, MATEO D M, et al. Effect of age on EAG response and attraction of female *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae) to ammonia and carbon dioxide [J]. Environ Entomol, 2005, 34: 584-590.
- [16] ALUJA M, DIAZ-FLEISCHER F, PAPA J D R, et al. Effects of age, diet, female density, and the host resource on egg load in *Anastrepha luden* and *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae) [J]. J Insect Physiol, 2001, 47: 975-988.
- [17] RAGHU S, HALCOOP P, DREW A I. Apodeme and ovarian development as predictors of physiological status in *Bactrocera cacuminata* (Hering) (Diptera: Tephritidae) [J]. Aust J Entomol, 2003, 42: 281-286.
- [18] 张维, 李元英. $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线对柑橘大实蝇 *Dacus citri* 雌虫生殖细胞的影响[J]. 核农学报, 1990, 4(2): 115-119.
- [19] WEBSTER R P, STOFFOLANO J G, PROKOPY R J. Long-term intake of protein and sucrose in relation to reproductive behaviour of wild and laboratory cultured *Rhagoletis pomonella* [J]. Ann Entomol Soc Amer, 1979, 72: 41-46.
- [20] DREW R A I. Behavioural strategies of fruit flies of the genus *Dacus* (Diptera: Tephritidae) significant in mating and host-plant relationships [J]. B Entomol Res, 1987, 77: 73-81.
- [21] ZHOU X W, NIU C Y, HAN P, et al. Field evaluation of attraction lures for the fruit fly *Bactrocera minax* (Diptera: Tephritidae) and their potential use in spot sprays in Hubei Province (China) [J]. J Econ Entomol, 2012, 105(4): 1277-1284.

Grading criteria of the ovarian development in female adult of *Bactrocera minax* (Enderlein)

LIU Ying¹ XU Peng-hui¹ CHEN Zhou¹ LI Ping² NIU Chang-ying¹

1. College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. National Agricultural Technology Extension and Service Center, Beijing 100125, China

Abstract The Chinese citrus fly, *Bactrocera minax* (Enderlein), is one of the most harmful pests for citrus plants, which caused serious damage in recent years in China. In this study, we observed the ovarian development of *B. minax* under the microscope by measuring ovary length and width, ovarian index, follicle length, and the number of mature eggs. The results indicated that ovarian development of *B. minax* could be divided into five stages as follows: previtellogenic stage (I), vitellogenic deposition stage (II), expectant stage of mature eggs (III), peak stage of oviposition (IV), last stage of oviposition (V), which lasted for 1-10 days, 10-18 days, 18-23 days, 23-33 days and 33 days after adult eclosion, respectively. The results could serve as a grading criterion for assessing the sexual maturation in the Chinese citrus fly, and also benefit for the monitoring and control of *B. minax* in the field.

Key words *Bactrocera minax* (Enderlein); ovarian development; ovarian morphology; grading criteria

(责任编辑:陈红叶)