

桔小实蝇幼虫呼吸代谢研究

刘珍, 曾玲* (深圳市龙岗区农业科技推广中心, 广东深圳 518172)

摘要 [目的]明确桔小实蝇幼虫的呼吸代谢特征。[方法]以重要的水果害虫桔小实蝇幼虫为对象,研究其呼吸代谢特征。[结果]桔小实蝇整个幼虫期总耗氧量达 21.61 mL,耗氧量随着幼虫的生长发育而增加。各日龄幼虫的呼吸代谢存在显著差异,而这种差异与它们的生活特性有直接相关性。[结论]研究结果为进一步了解桔小实蝇为害规律和制定检疫处理技术提供了参考。

关键词 桔小实蝇;幼虫;为害;检疫处理

中图分类号 S433 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)22-0104-03

Respiratory Metabolism of *Bactrocera dorsalis* Larvae

LIU Zhen, ZENG Ling* (Longgang Shenzhen Agricultural Science and Technology Extension Center, Shenzhen, Guangdong 518172)

Abstract [Objective] The aim was to understand the respiratory metabolism of *Bactrocera dorsalis* larvae. [Method] Respiratory metabolism characteristics of the important fruit pests *Bactrocera dorsalis* were measured. [Result] The total oxygen consumption of *B. dorsalis* larvae reached 21.61 mL, oxygen consumption increased with the growth and development of larvae. There were significant differences in respiration metabolism among the larvae of different ages, and this difference was directly related to their life characteristics. [Conclusion] The results of the study are important to further understand the fruit damage law and enact quarantine treatment technology.

Key words *Bactrocera dorsalis*; Larvae; Damage; Quarantine treatment

呼吸代谢是昆虫的生理生态特征之一,既受内在因素的控制,也受外部条件的影响^[1]。昆虫从环境所摄取的能量,除一部分是物理能(光、热)外,大部分是食物中贮存的化学能,这些化学能通过呼吸作用,以特定形式有效地释放,为生命活动提供所需能量。测定呼吸变动的规律不仅可以了解昆虫对摄取和同化物质的利用情况及其特殊的行为,还可以进一步研究它对营养物质中能量的分配和利用,为整个昆虫种群能量流动提供十分有用的资料^[2]。

桔小实蝇是我国南方水果的主要害虫之一,成虫将卵产于果皮下,幼虫孵化后则钻蛀为害,老熟幼虫再从果实中钻出跳入土壤化蛹,幼虫基本是在缺氧的条件下生活^[3]。笔者测定了桔小实蝇幼虫的代谢速率和呼吸商等指标,进一步了解了其呼吸代谢特征,以期研究桔小实蝇的为害特征以及利用 CO₂ 进行检疫处理提供参考。

1 材料与方 法

1.1 供试虫源 桔小实蝇采自广州市杨桃公园。将采集的被害落果带回华南农业大学昆虫生态实验室,放入盖有纱布的桶中,待落果腐烂,挑取 3 龄老熟幼虫,放入盛有湿沙的养虫罐中,待其化蛹、羽化。成虫用香蕉进行饲养,并及时补充水。幼虫则用人工饲料进行饲养,人工饲料按以下比例进行配制:香蕉 100.0 g,玉米 100.0 g,蔗糖 20.0 g,酵母 20.0 g,苯甲酸钠 0.4 g,纸巾 20.0 g,盐酸 0.8 mL,水 200.0 mL。桔小实蝇在温度 25~28 ℃、相对湿度 70%~80%、光暗周期(光照:黑暗)16:8 h 条件下进行饲养。在实验室中连续饲养 3 代后,选择不同虫态进行呼吸代谢测定。

1.2 桔小实蝇呼吸代谢的测定 采用华勃式呼吸计(型号为 SKW-3,上海科技大学机电厂生产)测定昆虫桔小实蝇的呼吸商和耗氧量。该呼吸计利用反应瓶与“U”型管减压

计构成一个固定容积的密闭空间,使呼吸在恒温密闭的反应瓶中进行,然后根据“U”型管中胆酸钠液体柱刻度的变化来检测气压的微小变化,从而计算出气体体积的变化,故又称微量减压技术。由于昆虫的呼吸包括吸收氧气和释放二氧化碳 2 个过程,所以直接测定的结果是 2 种气体变化的总和。如果在反应瓶中加入氢氧化钠,吸收呼吸过程中释放的二氧化碳,所测得的结果就是氧气量变化。将 2 种测定结果结合起来,就可以推算出耗氧量和释放的二氧化碳量,由此测得昆虫的代谢速率和呼吸商。各项指标测定在华南农业大学昆虫生态研究室进行。

1.2.1 呼吸测定方法。 打开恒温器,使水槽内水温恒定在 25 ℃。准备 10 套减压计和相应的反应瓶,其中 1 个反应瓶内不加试虫作为空白对照,其他 9 个反应瓶加入发育时间相同、大小基本相同的试虫。将减压计的闭壁中胆酸钠溶液调至 150 mm,关闭活塞,开始试验。15 min 后,再次将闭壁中的胆酸钠溶液调节至 150 mm 处,记录减压计内液面刻度的变化,用对照刻度校正后,打开活塞,取出反应瓶,在中心小槽内插入折叠的滤纸条,然后加入 0.2 mL 10% 氢氧化钠溶液,再将反应瓶连接好,重复前次测定过程,所得的校正压力差就是呼吸消耗了氧气造成的体积变化。重复测定 3 次。耗氧量(μL/min)以每头幼虫 1 min 消耗氧气的微升量表示,代谢速率[μL/(mg·min)]以 1 mg 虫体鲜重 1 min 消耗氧气的微升量表示。

测定前稳定 30 min,1~2 日龄幼虫每次用 20 头测定;3~6 日龄每次用 10 头测定;各日龄幼虫重复测定 3 次。测定结束后,取出试虫称重,根据排水法用注射针筒装水测量试虫的体积。

1.2.2 计算公式。

(1)总气体体积变化($X_{\text{总}}, \mu\text{L}$):

$$X_{\text{总}} = H \times K, K = V_g T_0 / T / P_0$$

式中, H 为压力计数(mm); P_0 为 10 000 mm,是以检压液 Bro-

作者简介 刘珍(1981—),女,甘肃嘉峪关人,农艺师,硕士,从事植物检疫病虫害防治研究。*通讯作者,教授,博士生导师,从事农业昆虫与害虫防治、植物检疫研究。

收稿日期 2017-06-30

die 表示的标准气压; $T_o = 273\text{ }^\circ\text{C}$, $T = 298\text{ }^\circ\text{C}$, $V_g =$ 瓶体积 - 虫体积。

(2) 消耗氧气的体积(X_{O_2} , μL):

$$X_{O_2} = K \cdot h_{O_2} \quad K = (V_g \cdot T_o / T + V_f \cdot a) / P_o$$

式中, $P_o = 10\ 000\ \text{mm}$; $T_o = 273\text{ }^\circ\text{C}$; $T = 298\text{ }^\circ\text{C}$; $V_g =$ 瓶体积 - 虫体积; 液体: $V_f =$ 液体体积; a 为氧气溶解度。

(3) 排出二氧化碳的体积:

$$X_{CO_2} = X_{\text{总}} - X_{O_2}$$

(4) 呼吸商和呼吸率:

$$\text{呼吸商} = X_{CO_2} / X_{O_2}$$

$$\text{呼吸率} = X_{O_2} / \text{虫体重} / \text{呼吸时间}$$

1.3 统计分析 用单向方差分析不同日龄幼虫耗氧量、鲜重、代谢速率和呼吸商的差异。

2 结果与分析

2.1 桔小实蝇幼虫期的耗氧量和代谢速率 结果表明, 桔小实蝇整个幼虫期总耗氧量达 21.61 mL, 耗氧量随着幼虫的生长发育而增加。其中 1~2 日龄的初孵幼虫体重微小, 所以耗氧量很少, 为 1.99 mL, 仅占整个幼虫期耗氧量的 9.2%, 然而由于行动活泼, 它们的代谢速率相当高, 平均达 $0.057\ \mu\text{L}/(\text{mg} \cdot \text{min})$ 。随着龄期的增长和体重的增加, 耗氧量也逐渐增加, 到 6 日龄时, 耗氧量最大达 6.28 mL, 占整个幼虫期耗氧量的 29.06%。而与此同时, 随着幼虫的生长发育, 其活动性逐渐减小, 代谢速率也逐渐降低。到 3~4 日龄, 代谢速率平均为 $0.020\ 5\ \mu\text{L}/(\text{mg} \cdot \text{min})$, 到 5 日龄之后, 代谢速率开始上升, 到 6 日龄达 $0.039\ 5\ \mu\text{L}/(\text{mg} \cdot \text{min})$ 。整个幼虫生长期, 虫龄越小, 日龄之间的代谢速率相差越大; 虫龄越大, 这个差值就越小。例如, 1 龄幼虫不同日龄之间的代谢速率差为 $0.026\ 6\ \mu\text{L}/(\text{mg} \cdot \text{min})$, 而 3 龄幼虫不同日龄之间的代谢速率之差仅为 $0.006\ 8\ \mu\text{L}/(\text{mg} \cdot \text{min})$, 是 1 龄幼虫的 25.6% (表 1)。

表 1 桔小实蝇幼虫不同日龄的耗氧量和代谢速率

Table 1 The oxygen consumption and metabolic rate of *Bactrocera dorsalis* larvae

日龄 Age in days	耗氧量 Oxygen consumption mL	鲜重 Fresh weight mg	代谢速率 Metabolic rate $\mu\text{L}/(\text{mg} \cdot \text{min})$
1	0.51 ± 0.09 e	0.85 ± 0.02 f	0.073 4 ± 0.007 a
2	1.48 ± 0.07 d	1.35 ± 0.04 e	0.040 1 ± 0.003 b
3	2.78 ± 0.08 c	8.52 ± 0.12 d	0.031 7 ± 0.001 c
4	5.06 ± 0.08 b	10.64 ± 0.07 c	0.020 1 ± 0.001 e
5	5.50 ± 0.71 a	13.99 ± 0.17 b	0.021 1 ± 0.003 d
6	6.28 ± 1.14 a	14.81 ± 0.09 a	0.039 5 ± 0.005 b

注: 同列不同字母表示不同处理间在 0.05 水平差异显著 (Duncan's 新复极差法)

Note: Different small letters at the same column showed significant differences among different treatments at 0.05 level (Duncan's new multiple range test)

试验结果表明, 幼虫日龄的耗氧量与鲜重之间有明显的线性相关性, 随着体重的增加耗氧量逐渐增加, 二者之间的关系符合以下回归方程 (图 1): $y = 0.376\ 2x + 0.456\ 5$, $R^2 = 0.942\ 6$, $P = 0.001$ 。式中, y 为耗氧量, x 为幼虫鲜重。

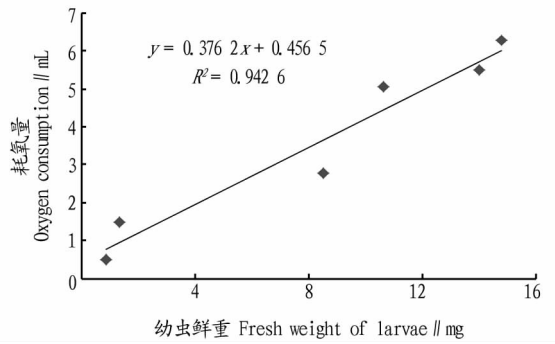


图 1 桔小实蝇幼虫耗氧量和鲜重的关系

Fig. 1 The relationship between oxygen consumption and fresh weight of *Bactrocera dorsalis* larvae

由图 2 可知, 桔小实蝇的幼虫随着发育天数的增加, 体重明显增加, 代谢速率先随着幼虫的生长发育明显降低, 到 4 日龄后又表现增大趋势, 两者之间无显著相关性 ($R = 0.474$, $P = 0.13$)。

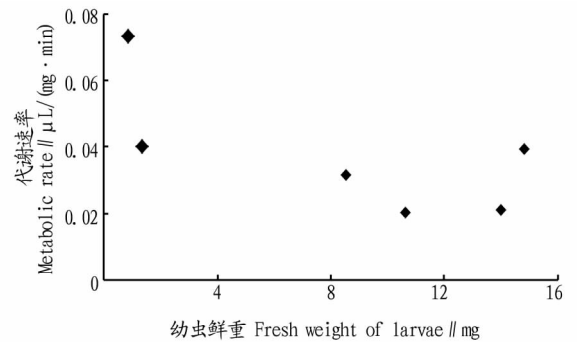


图 2 桔小实蝇幼虫代谢速率和鲜重的关系

Fig. 2 The relationship between metabolic rate and fresh weight of *Bactrocera dorsalis* larvae

2.2 幼虫期的呼吸能量消耗 根据桔小实蝇幼虫期呼吸代谢测定的结果, 用氧卡系数 ($20.22\ \text{J}/\text{mLO}_2$)^[4] 将之换算成能量。由表 2 可知, 不同发育阶段的个体呼吸能量消耗占总呼吸能量消耗的比例随虫体的生长发育和日龄的增加而增大, 1 日龄消耗的能量最少为 10.31 J/头, 随着日龄和耗氧量的增大能量消耗也逐渐增大, 到 6 日龄达最大值 126.98 J/头, 2~5 日龄的能量消耗逐渐增大, 分别为 29.93、56.21、102.31 和 111.27 J/头。

表 2 桔小实蝇不同日龄幼虫的耗氧量和能量消耗

Table 2 The oxygen consumption and energy consumption of *Bactrocera dorsalis* larvae

日龄 Age in days	耗氧量 Oxygen consumption $\mu\text{L}/(\text{mL} \cdot \text{min})$	能量 Energy/J
1	0.51	10.31
2	1.48	29.93
3	2.78	56.21
4	4.28	102.31
5	5.06	111.21
6	5.50	126.98
总计 Total	21.61	436.95

2.3 呼吸商 试验结果表明,幼虫期不同日龄的呼吸商差异显著(图3),2日龄最大为0.888 5,3日龄最小为0.822 6,其他日龄的大小依次为5日龄、1日龄、6日龄、4日龄。蛹期的呼吸商随着蛹期的增加逐渐减少。

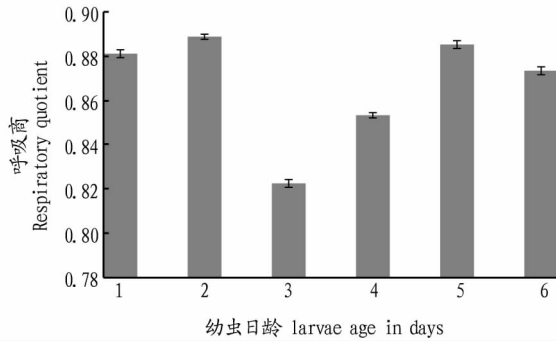


图3 桔小实蝇幼虫的呼吸商

Fig.3 Respiratory quotient of *Bactrocera dorsalis* larvae

3 结论与讨论

一切生命活动都要消耗能量,植食性昆虫生命活动所需的能量主要来源于寄主植物,不同龄期由于消耗的能量不同所摄取食物的量也有所差异,因此,在评价昆虫整个种群的能量消耗时,要考虑到不同龄期之间的差异。桔小实蝇的幼虫分3个龄期,1~2龄幼虫在果实内生活且不会弹跳,3龄老熟幼虫会从果实中弹跳到土表,寻找适当地点化蛹,其跳跃距离在15~25 cm,高度在10~15 cm,并可连续跳跃多次。由于不同龄期幼虫的生长量和活动性不同,这有可能影响到它的呼吸代谢。该研究发现各龄期间呼吸代谢差异与其生活特征和活动性存在对应关系。

呼吸商反映呼吸底物的利用情况,动物纯粹利用碳水化

合物或者脂肪作为底物时的呼吸商分别为1.0和0.7^[5-6]。桔小实蝇幼虫的呼吸商平均为0.87,表明其利用的呼吸基质主要是碳水化合物,这同其他昆虫在植食性阶段的代谢规律是一致的^[7-8]。

在较低的氧浓度条件下,密闭昆虫一段时间才对昆虫有致死作用,并随着密闭时间的延长,昆虫的死亡率增加,而昆虫的耐缺氧能力与其呼吸代谢水平有直接关系^[9]。因此,该研究结果也可为实蝇的薰蒸和气调处理提供参考^[10-11]。

参考文献

- [1] KEISTER M, BUCK J. Respiration; Some exogenous and endogenous effects on rate of respiration[J]. *The physiology of insecta*, 1964, 3: 617-658.
- [2] 祖元刚. 能量生态学引论[M]. 吉林: 吉林科学技术出版社, 1990.
- [3] 林进添, 曾玲, 陆永跃, 等. 桔小实蝇的生物学特性及防治研究进展[J]. *仲恺农业技术学院学报*, 2004, 17(1): 60-67.
- [4] BRODY S. *Bioenergetics and Growth*[M]. New York: Reinhold Publishing Corp, 1945.
- [5] SOUTHWOOD T S. *Ecological methods with particular reference to the study of insect populations*[M]. Springer: Springer-Verlag, 1978.
- [6] 刘惠霞, 张克斌, 杨峰. 利用简易方法测定大型昆虫呼吸商的研究[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 1986, 14(2): 117-122.
- [7] 王冬梅, 李娟, 李爽, 等. 温度对意大利蝗呼吸代谢的影响[J]. *昆虫学报*, 2014, 57(3): 373-378.
- [8] 钱雪, 窦洁, 王冬梅, 等. 西伯利亚蝗气门结构及呼吸代谢对高温胁迫的响应[J]. *应用昆虫学报*, 2016, 53(4): 837-842.
- [9] DONAHAY E J, NAVARRO S, RINDNER M, et al. The combined influence of temperature and modified atmospheres on *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) [J]. *Journal of stored products research*, 1996, 32(3): 225-232.
- [10] ARMSTRONG J W, WHITEHAND L C. Effects of methyl bromide concentration, fumigation time, and fumigation temperature on Mediterranean and oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) egg and larval survival [J]. *Journal of economic entomology*, 2005, 98(4): 1116-1125.
- [11] KOYAMA J, KAKINOHANA H, MIYATAKE T. Eradication of the melon fly, *Bactrocera cucurbitae*, in Japan; Importance of behavior, ecology, genetics, and evolution [J]. *Annual reviews in entomology*, 2004, 49(1): 331-349.

(上接第35页)

培再生系统完全不同于传统固体愈伤培养模式,该研究只是初步的探索,需要对其影响因素进行更多的研究分析,建立更加完善的技术体系。

高粱常规愈伤再生系统研究结果表明,幼穗是分化培养最适宜的外植体,其愈伤组培的胚性最好,愈伤液培结果也证明了这一点,当把幼穗、茎尖等外植体的愈伤组织块进行液体分化培养时,只有幼穗愈伤会产生相互分离的胚状体结构。该结果说明高粱幼穗愈伤分化出苗主要是通过胚状体的途径,其意义在于这种愈伤液培方式可以用于转基因技术研究中。

由于液培时培养物完全浸没在培养基里,不像固体培养时培养物与培养基只是局部接触,所以会产生不同于常规固体培养时的效果,甚至出现意想不到的结果,可见液体培养是一种很有价值的离体培养手段。此外,通过静止与振荡液培比较试验,可以看出振荡对许多液培来说是非常必要的,

振荡可以加快培养物的生长。

参考文献

- [1] ZHU H, MUTHUKRISHNAN S, KRISHNAVENI S S, et al. Biolistic transformation of sorghum using a rice chitinase gene [J]. *J Genet Breed*, 1998, 52: 243-252.
- [2] 朱莉, 郎志宏, 李桂英, 等. 农杆菌介导甜高粱转 Bt *cry1Aa* 的研究 [J]. *中国农业科学*, 2011, 44(10): 1989-1996.
- [3] MASTELLER V J, HOLDEN D J. The growth of and organ formation from callus tissue of sorghum [J]. *Plant Physiol*, 1970, 45(3): 362-364.
- [4] BRETTELL R I S, WERNICKE W, THOMAS E. Embryogenesis from cultured immature inflorescences of *Sorghum bicolor* [J]. *Protoplasma*, 1980, 104(1/2): 141-148.
- [5] JOGESWAR G, RANADHEER D, ANJALIAH V, et al. High frequency somatic embryogenesis and regeneration in different genotypes of *Sorghum bicolor* (L.) Moench from immature inflorescence explants [J]. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, 2007, 43(2): 159-166.
- [6] 白志良, 王良群, 郑雨萍, 等. 高粱不同外植体离体培养 [J]. *华北农学报*, 1995, 10(1): 60-63.
- [7] 王良群, 白志良, 李爱军, 等. 影响高粱体细胞无性系发生几个因素分析 [J]. *山西农业科学*, 1995, 23(2): 34-37.