

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2015.04.007

苹果蠹蛾滞育特性研究进展

吴正伟, 樊江斌, 张雅林, 王 敦*

西北农林科技大学植物保护学院, 植保资源与病虫害治理教育部重点实验室, 陕西 杨凌 712100

摘要: 苹果蠹蛾是苹果、梨等仁果类果树上的重要害虫,也是重要的入侵害虫。其具有寄主广泛、适生性强、蛀果为害等特点,一旦侵入很难彻底根除。老熟幼虫脱果后寻找隐蔽场所滞育的习性是其适应不利环境和维持种群繁衍的重要生存策略。本文就苹果蠹蛾幼虫滞育的诱导和终止因素、滞育场所的选取及聚集习性、滞育幼虫对环境的适应能力及内在生理生化特性以及针对滞育幼虫的防治技术等研究进行了综述,为探明苹果蠹蛾的灾变机理、预测预报和防治提供依据。

关键词: 老熟幼虫; 过冷却点; 低温; 光周期; 聚集

Diapause propensity in the codling moth, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera, Tortricidae)

Zheng-wei WU, Jiang-bin FAN, Ya-lin ZHANG, Dun WANG*

Key Laboratory of Plant Protection Resources & Pest Management of the Ministry of Education,
College of Plant Protection, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China

Abstract: The codling moth, *Cydia pomonella* (L.), is a notorious invasive fruit pest of apple, pear and other pome fruits. Eradication of this invasive pest is difficult, due to its extensive host range, high habitat suitability and larval feeding inside fruits. The mature larva leaves damaged fruit for shelter where pupation or diapause happens. The diapausing larva can survive under adverse natural conditions and diapause is also the most important survival strategy for the population. The present review summarizes the factors of inducing and terminating diapause, the selection of diapause sites, aggregation behavior, environmental adaptability and physiological and biochemical characteristics of diapausing larvae. Research on diapause propensity in *C. pomonella* can provide a reference basis for prediction and control of the pest.

Key words: mature larvae; supercooling point; low temperature; photoperiod; aggregation

苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* (L.) 是苹果、梨等果树的重要蛀果害虫,也是世界性检疫害虫,目前在各大洲苹果产区都有分布。自 20 世纪 50 年代在我国新疆发生以来,其不断加剧的入侵态势已对我国黄土高原和环渤海湾两大苹果主产区构成严重的威胁。该虫寄主多,适生区广泛,除了成虫及卵以外,其他虫态均隐藏于果实内或树皮树干裂缝里,世代重叠,可在苹果生长期对果实造成持续危害。苹果蠹蛾在我国西北地区一年发生 2~3 代,是多化性、兼性滞育昆虫。研究其滞育特性,探明其滞育诱导和终止的条件、滞育场所选择的行为特性、滞育幼虫的环境适应性及滞育幼虫的生理生化基础等,可为苹果蠹蛾的防治提供依据。

1 苹果蠹蛾老熟幼虫滞育诱导与终止因素

光照、温度、湿度、食物等均能诱导昆虫滞育,而光周期作为年变化规律性最强的自然因素,是苹果蠹蛾最主要的滞育诱导因子。临界光周期是指能诱使 50% 个体进入滞育的光照时间,不同地理种群的临界光周期随纬度升高而延长,如美国加利福利亚南部(32°N)苹果蠹蛾种群临界光周期为 13.5 h,而高纬度的匈牙利(47°N)则为 16~17 h (Dyck, 2010; Stoeckli *et al.*, 2012)。温度也是诱导滞育的重要因素之一。研究表明,即使在长光照条件下,低温(14.8 ℃)饲养的苹果蠹蛾仍有 15% 的幼虫进入滞育状态(Howell & Neven, 2000)。可见,短光照和低温是诱导苹果蠹蛾滞育的重要条件,通常 8~

收稿日期(Received): 2015-06-08 接受日期(Accepted): 2015-10-14
基金项目: 国家自然科学基金(31270691, 31170609)
作者简介: 吴正伟, 男, 博士研究生。研究方向: 资源昆虫利用与保护生物学
* 通讯作者(Author for correspondence), E-mail: dunwang@foxmail.com

12 h 光照和不低于 12 h 的 15~25 ℃ 低温共同作用可成功诱导该虫滞育 (Dyck, 2010)。然而,田间调查表明,每代苹果蠹蛾都有部分幼虫滞育,这是由外界其他因素引起的还是内在的遗传调控决定的尚不清楚。

光周期是终止滞育的最重要因素,而温度在滞育维持和终止方面起着重要的辅助作用。研究表明,在短光照 12:12 (L:D) 条件下饲养 6 个月后,有 62.9% 的苹果蠹蛾处于滞育状态,而最终能羽化的只有 0.2% (Neven, 2012, 2013)。由此可见,短光照不足以使幼虫打破滞育而正常羽化。另外,4~7 ℃ 低温处理超过 50 d 才能打破苹果蠹蛾滞育 (Cisneros, 1971)。0 ℃ 以下的低温 (-10 或 -15 ℃) 处理 2~6 d 可以缩短滞育时间并提高成虫羽化整齐度 (Neven *et al.*, 2000)。

2 滞育幼虫越冬场所选取及相关习性

对田间滞育幼虫的调查表明,树皮树干裂缝、修剪枝干处及近地面的树干部分均为其越冬场所,且老树明显多于幼树 (Blomefield & Giliomee, 2012)。但幼虫结茧位置分布,因果树树龄、品种、修剪程度等不同而异,如在老龄果树上,多数茧分布于 1.4 m 以下;而在幼龄果树 1.6 m 以下及 2.6 m 以上树枝裂缝内均有越冬幼虫结茧 (Blomefield & Giliomee, 2012)。于江南等 (2004) 调查表明,离地面 30~90 cm 树皮裂缝中越冬幼虫分布最多。而杜磊等 (2012) 通过室内木桩模拟试验表明,离地面 50 cm 以内为苹果蠹蛾主要结茧位置。此外,由于昆虫的体温直接受到小环境温度的影响,在研究幼虫对温度反应时发现,取食阶段的幼虫在苹果内倾向于温度高的一面,而老熟幼虫对结茧位置的选择不存在温度偏好 (Kührt *et al.*, 2005)。

通过对结茧的老熟幼虫释放出的化合物进行收集和气相色谱分析表明,8 种化合物对幼虫具有引诱聚集的作用 (Jumeau *et al.*, 2005),这可以解释田间调查中 40% 以上幼虫存在聚集结茧的现象 (Blomefield & Giliomee, 2012)。这些化合物的探索将为滞育幼虫聚集行为的化学生态研究奠定分子基础。

对梨园苹果蠹蛾的滞育情况调查表明,7 月份即有小部分 (8%~45%) 苹果蠹蛾滞育,8 月上旬滞育幼虫已占大多数 (44%~85%),8 月下旬及以后的老熟幼虫几乎全部滞育 (van Steenwyk *et al.*, 2004)。

3 苹果蠹蛾滞育幼虫的环境适应性

昆虫滞育是对不利环境的适应。滞育苹果蠹蛾幼虫对不同温度的适应能力直接关系到其能否安全越冬。一个月的低温 (5 ℃) 处理试验表明,滞育初期的幼虫死亡率明显高于经冷驯的滞育幼虫 (23% *vs.* 4%),说明滞育幼虫对低温的适应性具有明显的季节性 (Khani *et al.*, 2007a)。对采自伊朗德黑兰的苹果蠹蛾过冷却点 (Supercooling point, SCP) 测定表明,取食阶段 (非滞育) 的幼虫 SCP 为 (-12.4±1.1) ℃,结茧初期 (1~2 d) 幼虫的 SCP 为 (-15.1±1.2) ℃, >5 d 时为 (-19.2±1.8) ℃,越冬幼虫则为 (-20.2±0.2) ℃ (Khani & Moharramipour, 2010)。报道还显示,滞育幼虫保存于 15 ℃ 环境中 6~18 个月,其存活率能达到 92% 以上,而将其存放于 0~2 ℃ 可维持超过 2 年 (Dyck, 2010)。

热致死试验表明,滞育幼虫比非滞育幼虫有较强的耐热性,但在 50 ℃ 处理 5 min 后全部死亡 (Wang *et al.*, 2004)。另外,研究表明,结合高浓度 CO₂、低浓度 O₂ 的热处理对苹果蠹蛾滞育幼虫的防治有效,但该方法需时长且杀虫机制尚不清楚 (Neven *et al.*, 2014)。而氧限制热耐受理论 (Oxygen and capacity limitation of thermal tolerance, OCLTT) 可能用于揭示高温对昆虫致死作用的机理,即低氧或高温下组织获氧气量的减少阻碍了氧化磷酸化作用 ATP 的产生 (Pörtner, 2010)。对不同温度 (5~50 ℃) 下,环境中 O₂ 消耗速率及代谢热速率的实时监测表明,两者速率均随温度增加而升高 (5~40 ℃); 低于 40 ℃ 时部分代谢热量来自于同化作用,而高于 40 ℃ 时 O₂ 消耗速率及代谢热速率接近于 0。这些结果表明,在高于 45 ℃ 时短时的热处理足以有效杀死滞育老熟幼虫 (Neven *et al.*, 2014)。

4 苹果蠹蛾滞育幼虫的生理生化特性

幼虫在滞育过程中体内会发生一系列生理生化变化,而这些改变将是其抵御不良环境的内在物质基础。Rozsypal *et al.* (2013) 对中欧苹果蠹蛾种群的调查表明,其 SCP 能从夏季的 -15.3 ℃ 降到冬季的 -26.3 ℃,并且超过 83% 的幼虫能够安全越冬。经分析表明,过冷能力季节性增强得益于虫体部分脱水、体液渗透压的增强、冬季特异性代谢混合物的积累。在冬季,幼虫体内糖原、谷氨酰胺含

量降低,而果糖及其他糖类、多元醇和丙氨酸等自由氨基酸含量增加;海藻糖和脯氨酸浓度在整个冬季一直很高并相对稳定,可能有助于蛋白和细胞膜在 0℃ 以下低温保持稳定。Khani *et al.* (2007a) 调查也表明,越冬幼虫会积累大量海藻糖 ($18.4 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$),其含量是非滞育幼虫的 3.6 倍。

对滞育和非滞育幼虫脂肪酸组成的比较分析表明,两者的 6 种主要脂肪酸均依次为油酸、棕榈酸、亚油酸、棕榈油酸、硬脂酸、亚麻酸。而滞育幼虫亚油酸含量比非滞育幼虫增加 9.7%,棕榈酸含量下降 8.7%,这使得不饱和脂肪酸含量升高,推测其与滞育密切相关 (Khani *et al.*, 2007b)。研究还表明,苹果蠹蛾幼虫中共有 97 种膜磷脂,但各磷脂组分季节性变化很小,并且膜的流动性一直保持非常高的水平。在滞育过程中,磷酸胆碱与磷酸乙醇胺比值没有明显增高,表明苹果蠹蛾可能采用了耐冻性抗寒策略;脂肪溶解度的不断下降可以反映出脂肪酸不饱和度的季节性升高 (Rozsypal *et al.*, 2014)。

5 其他生理生化变化

由于滞育的发生与否伴随着多种生化物质的急剧变化,相关激素(保幼激素)、代谢物合成或降解相关的酶类也是滞育研究的一大焦点,包括山梨醇脱氢酶、氧化还原酶、 H_2O_2 酶、谷胱甘肽 S-转移酶、热激蛋白等。对法国东南部苹果蠹蛾种群的调查表明,对灭幼脉或溴氰菊酯具有抗性的种群滞育临界光周期有延长的现象,由此推测抗性产生过程中相关基因的改变也引起了滞育特性的变化 (Boivin *et al.*, 2004)。

体积微小 ($<10 \mu\text{L}$) 的纯水过冷却至 -39°C 以下仍可 不结冰,而冰核物质则可以促使水从液态向固态转变。生物冰核,如细菌、真菌、病毒、血液等,是自然界具冰核活性最强的异质冰核,可以使水在较高的亚低温下 ($-2 \sim -5^\circ\text{C}$) 结冰 (樊绍刚等, 2009)。对于大多数越冬昆虫,在对冰冻的适应策略划分中属于不耐结冰型。其会在寒冬来临前停止取食,排除大多数水分,清除体内冰核物质,降低虫体过冷却点,同时合成并积累大量多元醇、糖类 等抗寒物质,有些还可合成抗冻蛋白 (Antifreeze protein, AFP) (Zachariassen & Kristiansen, 2000)。AFP 可以通过防止细胞外冰晶的形成而保护生物体免受极度低温的伤害,目前已在脊椎动物、无脊

椎动物、植物、细菌、真菌中发现 (Venketesh & Dayananda, 2008)。对鳞翅目色卷蛾属 *Choristoneura* 4 个种抗冻蛋白的分析表明,β 螺旋结构和保守的苏氨酸残基是该类蛋白的主要特征 (Tyshenko *et al.*, 2005);而在苹果蠹蛾滞育幼虫中未见抗冻蛋白产生 (Neven, 1999)。是否有其他相关蛋白及其在滞育幼虫中的作用尚不清楚。

昆虫滞育期间不仅代谢减慢、活动减缓,而且需要抵御外界病原物的侵染。一些发育调节物质和防御成分已在昆虫滞育时期被发现,如日本柞蚕 *Antheraea yamamai* Guerin-Meneville 蛹滞育时产生的一种抑制发育的五肽 (Yamamarin)、从天蚕蛾 *Hyalophora cecropia* L. 滞育蛹中分离到的天蚕素、丽蝇 *Calliphora vicina* Robineall 滞育幼虫中的防御物 Alloferons、叶甲 *Gastrophysa atrocyanea* Mots. 滞育成虫中有抗真菌活性的滞育特异性多肽等 (Denlinger, 2008)。而有关苹果蠹蛾滞育和非滞育幼虫免疫差异的比较及相关的防御物质少有报道。

6 苹果蠹蛾滞育幼虫防治技术

对滞育幼虫的清除是减少虫源的重要措施。研究表明,采用诱集带可以做到无公害防治苹果蠹蛾越冬幼虫,其捕杀数量是刮老翘皮方法的 13 倍 (王庆波等, 2014)。对诱集材料的研究发现,旧衣物效果要比编织袋和瓦楞纸好 (林明极等, 2012)。覆土试验表明,果园耕土可以有效阻止翻入土中 (深度 $\geq 1 \text{ cm}$) 的苹果蠹蛾滞育幼虫和蛹的正常发育 (Baughman *et al.*, 2015)。这说明对蛀果或落果及时掩埋可以达到防治效果。苹果运输的果箱往往是滞育幼虫结茧的场所,熏蒸处理能够达到快速杀灭该虫的目的。试验表明,用冰醋酸累计 (1 h) 熏蒸处理 $174823 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,可以杀死全部滞育幼虫,尤其对于塑料制果箱效果最好 (Randall *et al.*, 2011)。在生物防治方面,滞育幼虫的聚集行为增加了自身被寄生蜂发现的可能,但似乎并未提高被寄生效率 (Jumeau *et al.*, 2009)。由于滞育幼虫越冬场所在地表及树干近地处,使得用病原线虫防治该虫成为可能 (De Waal *et al.*, 2013; Navaneethan *et al.*, 2010)。

7 小结

虽然已经明确光照和温度是苹果蠹蛾滞育诱导和终止的重要因素,但其他外在因素尤其在田

间,树皮树干裂缝等小环境的差异,是否对该虫滞育的发生有所影响等尚不清楚。另外,虫体自身对环境刺激的接收与反应、个体遗传水平等差异是否与兼性滞育有关需要进一步探讨。苹果蠹蛾滞育幼虫能够通过减少体内冰核,积累海藻糖、自由氨基酸,提高不饱和脂肪酸含量等途径成功度过严寒。通过对这些生化物质代谢途径及分子调控机理的研究很可能揭示调节该虫滞育的关键基因,进而发现新的作用靶标,为该虫的防治提供新途径。

参考文献

- 杜磊,朱虹昱,鲁天文,姜红霞,张润志. 2012. 苹果蠹蛾幼虫爬行特性. 应用昆虫学报, 49(1): 54-60.
- 樊绍刚,张党权,邓顺阳,明付焕. 2009. 抗冻蛋白和冰核蛋白对植物抗冻性能的作用机制. 经济林研究, 27(2): 125-130.
- 林明极,焦晓丹,隋广义. 2012. 苹果蠹蛾老熟幼虫诱杀技术. 应用昆虫学报, 49(1): 104-108.
- 王庆波,林明极,郭金洪,周进华. 2014. 诱杀苹果蠹蛾老熟幼虫试验分析. 山西果树, (3): 15-16.
- 于江南,吾木尔汗,肉孜加玛丽,范菊兰. 2004. 苹果蠹蛾越冬生物学及有效积温的研究. 新疆农业科学, 41(5): 319-321.
- Baughman W B, Nelson P N and Grieshop M J. 2015. Impact of cultivation and subsequent burial on *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) and *Conotrachelus nenuphar* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology*, DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/jee/tov071>.
- Blomefield T L and Giliomee J H. 2012. Availability and location of cocooning sites for diapausing codling moth larvae (*Cydia pomonella* (L.)) (Lepidoptera: Tortricidae) on mature and young apple trees. *African Entomology*, 20: 182-186.
- Boivin T, Bouvier J C, Beslay D and Sauphanor B. 2004. Variability in diapause propensity within populations of a temperate insect species: interactions between insecticide resistance genes and photoperiodism. *Biological Journal of the Linnean Society*, 83: 341-351.
- Cisneros F H. 1971. *Contribution to the Biological and Ecological Characterization of Apple and Walnut Host Races of Codling Moth, Laspeyresia pomonella* (L.). Riverside, CA: University of California.
- De Waal J Y, Malan A P and Addison M F. 2013. Effect of humidity and a superabsorbent polymer formulation on the efficacy of *Heterorhabditis zealandica* (Rhabditida: Heterorhabditidae) to control codling moth, *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae). *Biocontrol Science and Technology*, 23(1): 62-78.
- Denlinger D L. 2008. Why study diapause? *Entomological Research*, 38: 1-9.
- Dyck V A. 2010. *Rearing Codling Moth for the Sterile Insect Technique*. Rome: FAO, 1-199.
- Howell J F and Neven L G. 2000. Physiological development time and zero development temperature of the codling moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Environmental Entomology*, 29: 766-772.
- Jumeane Z, Gries R, Unruh T, Rowland E and Gries G. 2005. Identification of the larval aggregation pheromone of codling moth, *Cydia pomonella*. *Journal of Chemical Ecology*, 31: 911-924.
- Jumeane Z, Jones E and Gries G. 2009. Does aggregation behavior of codling moth larvae, *Cydia pomonella*, increase the risk of parasitism by *Mastrus ridibundus*? *Biological Control*, 49: 254-258.
- Khani A and Moharramipour S. 2010. Cold hardiness and supercooling capacity in the overwintering larvae of the codling moth, *Cydia pomonella*. *Journal of Insect Science*, 10: 1-12.
- Khani A, Moharramipour S and Barzegar M. 2007a. Cold tolerance and trehalose accumulation in overwintering larvae of the codling moth, *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). *European Journal of Entomology*, 104: 385-392.
- Khani A, Moharramipour S, Barzegar M and Naderi-Manesh H. 2007b. Comparison of fatty acid composition in total lipid of diapause and non-diapause larvae of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). *Insect Science*, 14: 125-131.
- Kührt U, Samietz J and Dorn S. 2005. Thermoregulation behaviour in codling moth larvae. *Physiological Entomology*, 30: 54-61.
- Navaneethan T, Strauch O, Besse S, Bonhomme A and Ehlers R U. 2010. Influence of humidity and a surfactant-polymer formulation on the control potential of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* against diapausing codling moth larvae (*Cydia pomonella* L.) (Lepidoptera: Tortricidae). *Biocontrol*, 55: 777-788.
- Neven L G. 1999. Cold hardiness adaptations of codling moth, *Cydia pomonella*. *Cryobiology*, 38: 43-50.
- Neven L G. 2012. Fate of codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) in harvested apples held under short photoperiod. *Journal of Economic Entomology*, 105: 297-303.
- Neven L G. 2013. Effects of short photoperiod on codling moth diapause and survival. *Journal of Economic Entomology*, 106(1): 520-523.

- Neven L G, Ferguson H J and Knight A. 2000. Sub-zero cooling synchronizes post-diapause development of codling moth, *Cydia pomonella*. *Cryo Letters*, 21: 203–214.
- Neven L G, Lehrman N J and Hansen L D. 2014. Effects of temperature and modified atmospheres on diapausing 5th instar codling moth metabolism. *Journal of Thermal Biology*, 42: 9–14.
- Pörtner H O. 2010. Oxygen- and capacity-limitation of thermal tolerance: a matrix for integrating climate-related stressor effects in marine ecosystems. *Journal of Experimental Biology*, 213: 881–893.
- Randall P, Sholberg P, Judd G and Cossentine J. 2011. Acetic acid fumigation of fruit storage bins to control diapausing codling moth larvae. *HortScience*, 46: 1634–1639.
- Rozsypal J, Košťál V, Berková P, Zahradníčková H and Šimek P. 2014. Seasonal changes in the composition of storage and membrane lipids in overwintering larvae of the codling moth, *Cydia pomonella*. *Journal of Thermal Biology*, 45: 124–133.
- Rozsypal J, Košťál V, Zahradnickova H and Simek P. 2013. Overwintering strategy and mechanisms of cold tolerance in the codling moth (*Cydia pomonella*). *PLoS ONE*, 8: e61745.
- Stoeckli S, Hirschi M, Spirig C, Calanca P, Rotach M W and Samietz J. 2012. Impact of climate change on voltinism and prospective diapause induction of a global pest insect — *Cydia pomonella* (L.). *PLoS ONE*, 7: e35723.
- Tyshenko M G, Doucet D and Walker V K. 2005. Analysis of antifreeze proteins within spruce budworm sister species. *Insect Molecular Biology*, 14: 319–326.
- van Steenwyk R A, Fouche C F and Collier T R. 2004. Seasonal susceptibility of ‘Bartlett’ pears to codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) infestation and notes on diapause induction. *Journal of Economic Entomology*, 97: 976–980.
- Venketesh S and Dayananda C. 2008. Properties, potentials, and prospects of antifreeze proteins. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28: 57–82.
- Wang S, Yin X, Tang J and Hansen J D. 2004. Thermal resistance of different life stages of codling moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Stored Products Research*, 40: 565–574.
- Zachariassen K E and Kristiansen E. 2000. Ice nucleation and antinucleation in nature. *Cryobiology*, 41: 257–279.

(责任编辑:杨郁霞)

