

# 松天牛小首螨对极端温度耐受性的驯化效应及低温存储研究

朱禹臻<sup>1,2</sup>, 黄晨燕<sup>1,2</sup>, 李俊楠<sup>1,2</sup>, 付煜<sup>1,2</sup>, 吴松青<sup>1,2</sup>, 张飞萍<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>福建农林大学林学院, 福建 福州 350002;

<sup>2</sup>福建农林大学, 生态公益林重大有害生物防控福建省高校重点实验室, 福建 福州 350002

**摘要:**【目的】松天牛小首螨是近年发现的首个能够寄生致死松墨天牛卵的一个螨类新种, 研究该螨对极端温度耐受性的驯化效应和低温存储条件, 有助于进一步评估该螨的潜在地理分布或应用区域, 并为该螨的规模化运输和存储提供基础依据。【方法】通过不同温度条件驯化后, 测定松天牛小首螨暴露在极端温度下的存活率, 同时比较不同低温条件下存储的松天牛小首螨膨腹体涌出的成螨数量, 以及存储的雌成螨的生存情况。【结果】高温驯化可显著提高雌成螨高温暴露存活率, 其中 30 °C 36 h 驯化后的存活率提高了 1.26 倍; 低温驯化可显著提高雌成螨极端低温暴露存活率, 其中 10 °C 96 h、10 °C 120 h 驯化后的存活率分别提高了 2.08 和 2.13 倍。以膨腹体为存储对象, 低温存储后涌出成螨的数量随着存储时间延长而逐渐显著减少; 以雌成螨为存储对象, 在 10 °C 条件下存储 30 d, 存活率为 65.10%, 在 4 °C 条件下存储 30 d, 存活率达 84.21%。【结论】松天牛小首螨具有很强的温度适应性, 短期温度驯化即可大幅提升其对极端温度的耐受性。膨腹体适合作为该螨短期低温存储对象, 雌成螨则适合作为中长期低温存储对象。

**关键词:** 松天牛小首螨; 松墨天牛; 驯化; 低温存储



开放科学标识码  
(OSID 码)

## Acclimation induces tolerance to extreme temperatures and low storage temperature conditions in *Paracarophenax alternatus* Xu and Zhang

ZHU Yuzhen<sup>1,2</sup>, HUANG Chenyan<sup>1,2</sup>, LI Junnan<sup>1,2</sup>, FU Yu<sup>1,2</sup>, WU Songqing<sup>1,2</sup>, ZHANG Feiping<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>College of Forestry, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China; <sup>2</sup>Key Laboratory of Integrated Pest Management in Ecological Forests, Fujian Province University, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China

**Abstract:** 【Aim】*Paracarophenax alternatus* is the first species reported to parasitize and kill *Monochamus alternatus* eggs. Studies on acclimation effects in *P. alternatus* resulting in extreme temperature tolerance and low-temperature storage may help assess the potential geographical distribution or application area, and provide a basis for insights into large-scale transportation and storage durability of this mite. 【Method】After acclimatisati on at different temperatures, survival rates of *P. alternatus* were recorded following exposure to extreme temperatures. The number of adult mites released from the expanding abdomen of *P. alternatus* and survival rates of adult female mites were compared under different low-temperature conditions. 【Result】Survival rates of adult female mites exposed to high temperatures increased 1.26-fold after acclimatisati on at 30 °C for 36 h. Survival rates of adult females exposed to extremely low temperatures significantly increased (2.08-fold and 2.13-fold) after acclimatisati on at 10 °C for 96 h and 120 h. Low-temperature storage effects were assessed using the expanding abdomen as a storage object. The number of emerging mites gradually and significantly decreased with increasing storage time. When female adult mites were used as storage objects, the survival rates of

收稿日期 (Received): 2021-07-13 接受日期 (Accepted): 2021-08-22

基金项目: 国家林业和草原局重大应急科技项目 (2D202001); 国家重点研发计划课题 (2017YFD0600105); 国家自然科学基金项目 (U1905201, 31601905); 福建省林业科技项目 (闽财指[2020]601号); 福建省科技计划项目 (2018N5002); 福建省林业科学研究项目 (闽林科[2017]03); 福建农林大学科研基金 (xjq201614)

作者简介: 朱禹臻, 女, 硕士研究生。研究方向: 森林昆虫学。E-mail: 434444072@qq.com

\* 通信作者 (Author for correspondence): 张飞萍, E-mail: fpzhang1@163.com

adult females were 65.10% at 10 °C for 30 d and 84.21% at 4 °C for 30 d. 【Conclusion】 *P. alternatus* showed high temperature adaptability. Short-term temperature acclimatisati on can markedly increase its tolerance to extreme temperatures. The expanding abdomen is suitable for short-term storage, and adult females are suitable for medium- and long-term storage.

**Key words:** *Paracarophenax alternatus*; *Monochamus alternatus*; acclimation; low temperature storage

松材线虫 *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner Bührer) Nickle 病是松树的毁灭性病害,已在我国造成巨大危害。松墨天牛 *Monochamus alternatus* Hope 是松材线虫病的主要传播媒介,防治松墨天牛是遏制松材线虫病扩散蔓延的关键措施之一(宋红敏和徐汝梅,2006;朱诚棋等,2017)。松天牛小首螨 *Paracarophenax alternatus* Xu and Zhang 是近年在福建闽侯首次发现的小首螨新种,也是首个能寄生并致死松墨天牛卵的天敌螨类,极具生物防治应用潜力(Xu *et al.*, 2018)。然而,目前对该螨的研究甚少。

研究证明,通过特定时间、特定非致死温度条件下的饲养驯化,昆虫或螨类往往可以显著提高其对极端温度的耐受性,表现出显著的驯化效应(景晓红和康乐,2002;李永涛等,2016;岳雷等,2013)。明确天敌昆虫或螨类对极端温度耐受性的驯化效应,有助于深入了解其地理分布、使用区域、季节适应性,建立科学的应用方法。鉴于此,本研究测定了不同温度条件驯化下松天牛小首螨对极端温度的耐受性及其变化,以及不同低温条件下的生存时间,以期为利用该螨防治松墨天牛提供基础性依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试虫源

松天牛小首螨来源于实验室建立的实验种群,以松墨天牛卵为寄主进行繁育和保种,饲养条件为 26 °C、RH60%、12D:12L。松墨天牛卵采于松树木段。

### 1.2 高温驯化试验

松天牛小首螨属于膨腹体胎生类,若螨在膨腹体中发育至成熟,仅见成螨阶段活动。该螨种群中雄螨的数量极少。本研究选择雌成螨为研究对象,将雌成螨进行高温驯化锻炼,再进行极端高温暴露处理。根据预试验结果,驯化高温设置 30、33、37 °C 3 个温度梯度,以 25 °C 未经驯化处理为对照;驯化时间设置 12、24、36、48、60 h 5 个时间梯度;极端高温暴露条件为 42 °C 3 h。温度由人工气候箱控制。

高温驯化处理后,将各组试螨随机进行高温暴露胁迫,然后直接放入 25 °C、RH60% 的人工气候箱内饲养 24 h,然后在体式显微镜下统计各处理的存

活率。以螨体色泽鲜艳、体型饱满,用毛笔轻触第一对足有行为反应视为存活,以虫体无光泽、干瘪,毛笔触动无反应视为死亡。每处理均设 5 组重复,每组试螨 30 头,放置于 2 mL 透明离心管内并盖紧。

### 1.3 低温驯化试验

根据预试验结果,驯化低温设置 10、15、20 °C 3 个温度梯度,以 25 °C 未经驯化处理为对照;驯化时间设置 24、48、72、96、120 h 5 个时间梯度;极端低温暴露条件为 -10 °C 3 h。驯化温度由人工气候箱控制,胁迫低温条件由低温恒温槽控制。其余试验方法与 1.2 相同。

### 1.4 低温存储试验

1.4.1 低温存储对松天牛小首螨膨腹体涌出成螨数量的影响 以松天牛小首螨膨腹体作为存储对象。存储温度设置 0、5、10 °C 3 个处理,存储时间设置 5、10、15、20、25、30 d 6 个处理,温度由海尔牌调温冰箱控制。以寄生在松墨天牛卵上的松天牛小首螨膨腹体发育至第 3 天的天牛卵为测试对象,将 5 粒上述松墨天牛卵设为一组,放置于直径 5 cm 的玻璃培养皿中,皿壁涂凡士林以防涌出的成螨逃逸。将上述培养皿分别放置到不同温度的冰箱中存储,按照设定的存储时间处理完成后,取出培养皿并放入 25 °C、RH60% 的人工气候箱中恢复和培养,连续观察 6 d 并记录膨腹体发育情况,统计涌出的成螨数量(该条件下松天牛小首螨膨腹体发育历期不长于 4 d)。

1.4.2 低温存储对松天牛小首螨雌成螨存活的影响 以松天牛小首螨雌成螨为存储对象。存储温度设置 4、10 °C 2 个处理,用调温冰箱控制温度。存储时间设置 5、10、15、20、25、30 d 6 个处理。将 30~40 头从膨腹体涌出 24 h 内的松天牛小首螨雌成螨设为一个处理组,放入一个 2 mL 透明离心管中,管口塞入湿棉花保湿并盖紧,然后分别放入不同温度冰箱中存储。后按照设定的存储时间处理完成后,取出离心管放入 25 °C、RH60% 的人工气候箱中恢复 24 h,在体式显微镜下观察并记录雌成螨存活情况。对照组设置为 25 °C,由人工气候箱控制温度。每处理设 3 重复。

### 1.5 数据分析

用方差分析(ANOVA)比较驯化后极端温度暴露存活率,用LSD法比较平均数,用SPSS 23.0软件进行统计分析,用GraphPad Prism8软件制作图表。

## 2 结果与分析

### 2.1 高温驯化对松天牛小首蛾极端高温耐受性的影响

方差分析结果表明,驯化温度和驯化时间均对松天牛小首蛾雌成蛾高温暴露存活率存在显著影

响(驯化温度: $F=15.627;df=2,30;P<0.05$ ;驯化时间: $F=19.116;df=4,30;P<0.05$ ),但驯化温度、驯化时间二者的交互作用未见显著影响( $F=0.921;df=8,30;P>0.05$ )。由图1可知,与对照相比,经过驯化的雌成蛾在高温暴露胁迫后的存活率均显著提高,其中30℃驯化36h的存活率(50.57%)最高,是对照的2.26倍。

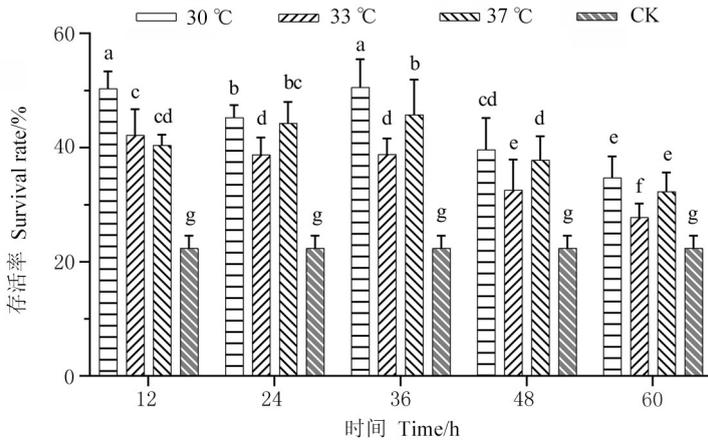


图 1 不同驯化处理松天牛小首蛾雌成蛾极端高温暴露(42℃、3h)下的存活率

Fig.1 Survival rate of *P. alternatus* adult females exposed to 42 °C for 3 h after different acclimatisation treatments

### 2.2 低温驯化对松天牛小首蛾极端低温耐受性的影响

方差分析结果表明,驯化温度、驯化时间以及两者的交互作用均对松天牛小首蛾雌成蛾极端低温暴露的存活率有显著影响(驯化温度: $F=112.172;df=2,30;P<0.05$ ;驯化时间: $F=12.201;df=4,30;P<0.05$ ;交互作用 $F=8.682;df=8,104;P<$

0.05)。由图2可知,与对照相比,各种驯化处理均显著提高了松天牛小首蛾雌成蛾在极端低温暴露下的存活率,其中10℃96h、10℃120h驯化处理的存活率(68.79%、69.98%)最高,是对照的3.08和3.13倍。

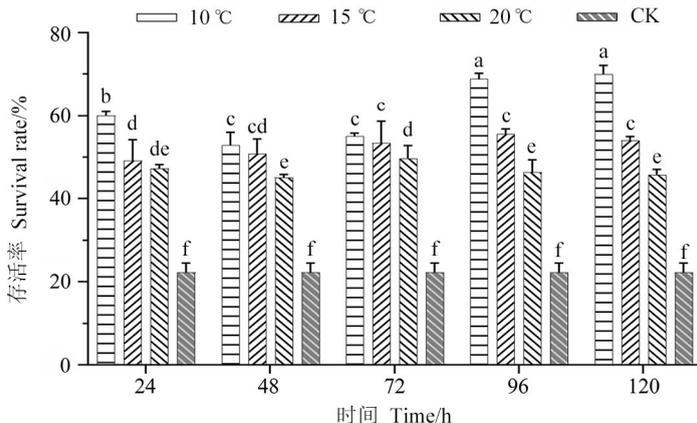


图 2 不同驯化处理松天牛小首蛾雌成蛾极端低温暴露(-10℃、3h)下的存活率

Fig.2 Survival rate of adult *P. alternatus* females exposed to -10 °C for 3 h after different acclimating treatments

### 2.3 不同低温存储松天牛小首螨膨腹体涌出成螨的数量

不同低温条件存储下松天牛小首螨膨腹体涌出成螨的数量见表 1。从表中可以看出,在特定存储时间下,3 种存储温度之间的松天牛小首螨膨腹体涌出成螨数量总体上差异较小,尤其在 15 d 内,

各存储温度处理下膨腹体涌出成螨的数量都比较多。然而,在特定存储温度下,随着存储时间的延长,膨腹体涌出成螨的数量逐渐显著减少。尤其是 10 ℃ 存储 20 d 后、5 ℃ 存储 25 d 后、0 ℃ 存储 30 d 后膨腹体涌出成螨的数量大幅减少。

表 1 不同低温存储松天牛小首螨膨腹体涌出成螨数量

Table 1 The number of *P. alternatus* adults emerged from inflated abdomen stored at different temperatures

存储时间 Storage time/d	存储温度 Storage temperature/℃		
	0	5	10
5	193.0±5.9Aa	180.0±5.3Aa	193.3±3.0Aa
10	180.3±3.5Aa	175.7±3.0Aa	164.3±7.8Ab
15	157.3±6.5Ab	150.7±6.6Ab	142.3±6.2Ac
20	123.7±3.3Ac	120.3±5.5Ac	76.3±6.4Bd
25	100.3±4.9Ad	78.3±6.1Bd	40.3±3.7Ce
30	22.3±4.3Be	48.0±4.6Ae	19.3±3.0Bf

数据为平均值±标准差,大写字母为差异显著性同行比较,小写字母为差异显著性同列比较,差异显著性采用 LSD 法检验 ( $P=0.05$ )。

Numbers are means±standard error. The capital letters are peer comparison of difference significance, and the lowercase letters are comparison among the same column. Upper case letters indicate between-column, lower case letters indicate within-column comparison outcomes. The differences were tested by LSD method ( $P=0.05$ ).

### 2.4 不同低温存储松天牛小首螨雌成螨的存活率

不同低温存储下松天牛小首螨雌成螨的生存曲线见图 3。从图中可以看出,总体上随着存储时间的延长,该螨存活率逐渐下降,但不同存储温度之间存在明显差异。在对照 25 ℃ 条件下,该螨在 15 d 内的

存活率仅有 50% 左右,在 30 d 内死亡率超过 80%;然而,在 10 ℃ 条件下存储 30 d 该螨有 65.10% 的存活率,在 4 ℃ 条件下存储 15 d 有 92.11% 的个体存活,存储 30 d 仍有 84.21% 个体存活。

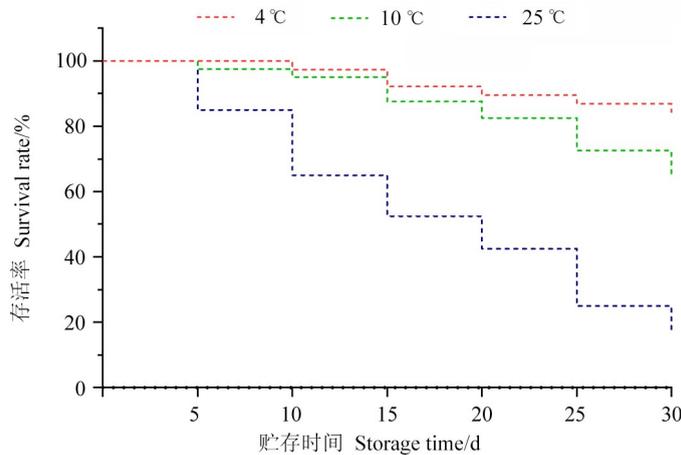


图 3 不同温度条件下存储松天牛小首螨雌成螨的生存曲线

Fig.3 Survival curves of *P. alternatus* female adults stored at different temperatures

## 3 讨论与结论

已有研究表明,我国松材线虫病有向北扩散的趋势(赵捷等,2017)。松天牛小首螨作为新发现控制该病主要媒介昆虫松墨天牛的潜在生防因子,研究该螨对极端温度的适应性具有重要意义。昆虫或螨类等变温动物经过特定温度驯化一定时间,能

够显著提高自身对极端温度的耐受性,如:5 ℃ 短期低温驯化能够显著提高飞蝗 *Locusta migratoria* L. 卵的耐寒性(王竑晟,2006);低温驯化也能显著提高拟步甲科昆虫的耐寒性(库尔班·吐松等,2016)。秋季到冬季的温度季节性变化对大多数昆虫和螨类顺利越冬具有重要作用,能够减轻由于气

温降低而引起的种群衰减(唐斌等,2004)。本研究表明,30、33、37℃驯化12~60 h,可显著提高松天牛小首螨雌成螨高温暴露胁迫后的存活率,尤其是30℃驯化36 h的存活率比对照提高了1.26倍。10、15、20℃驯化24~120 h可显著提高该螨极端低温暴露下的存活率,特别是10℃96 h、10℃120 h驯化处理的存活率均比对照提高了约2.1倍。上述结果说明,松天牛小首螨具有很强的温度适应性,短期的温度驯化即可大幅提升其对极端温度的耐受性;也说明尽管该螨目前仅在局部地区分布,但其潜在的分布或应用区域可能比目前发现的要广。

观察发现,松天牛小首螨世代周期短,4 d即能完成1代,繁殖力强,一个膨腹体可胎生上百只成螨。如何长期存储足够的螨虫,是实现该螨商品化运输和野外应用的重要问题。低温存储是天敌昆虫或螨类长期保存的一种常用方法,如:智利小植绥螨 *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot 在4℃下能够长期存储(刘佰明等,2012);一些昆虫或螨类为适应不良环境常常产生休眠或滞育(华爱等,2002;张曼丽和范青海,2007)。类似的环境条件也可以作为长期存储天敌昆虫或螨类的条件。本研究发现,在0、5、10℃低温下存储松天牛小首螨膨腹体,在15 d内各存储温度处理的膨腹体涌出成螨数量均较多;随着存储时间延长,膨腹体涌出成螨的数量逐渐显著减少,尤其是10℃存储20 d后、5℃存储25 d后、0℃存储30 d后,膨腹体涌出成螨的数量大幅减少;上述结果说明,0~10℃是存储松天牛小首螨的适宜温度,但膨腹体可能仅适合作为短期存储对象。以雌成螨作为存储对象时,在10℃下存储30 d仍有60%以上的存活率,在4℃下存储30 d有80%以上个体存活,说明雌成螨是适合中长期低温存储的对象,4℃是其中较优的一个存储温度选项。然而,有关雌成螨的适宜存储温度,仍需进一步研究弄清存贮温度对其活性、寄生率、寿命等的影响才能确定。

## 参考文献

- 华爱,薛芳森,朱杏芬,2002.环境因素对昆虫滞育诱导的影响.江西农业大学学报(自然科学版),24(4):431-435.
- 景晓红,康乐,2002.昆虫耐寒性研究.生态学报,22(12):2202-2207.
- 库尔班·吐松,陆雪莹,刘小宁,马纪,2016.准噶尔小胸鳖甲短时低温胁迫响应的转录组分析.昆虫学报,59(6):581-591.
- 刘佰明,张君明,郭晓军,张帆,2012.冷藏温度、基质和时间对智利小植绥螨存活和生殖的影响.植物保护,38(6):54-58.
- 李永涛,刘敏,潘云飞,张燕南,张建萍,2016.短时高温暴露处理对双尾新小绥螨 *Neoseiulus bicaudus* Wainstein 生长发育的影响.应用昆虫学报,53(1):40-47.
- 宋红敏,徐汝梅,2006.松墨天牛的全球潜在分布区分析.昆虫学报,43(4):535-539.
- 唐斌,张帆,陶淑霞,熊继文,2004.中国植绥螨资源及其生物学研究进展.昆虫知识,41(6):32-36.
- 王竣晟,2006.飞蝗(*Locusta migratoria* L.)卵抗寒性的生理机制与适应性研究.博士学位论文.北京:中国科学院动物研究所.
- 岳雷,郭建英,周忠实,万方浩,2013.冷驯化对昆虫耐寒性及其适合度的影响.中国生物防治学报,29(2):286-293.
- 张曼丽,范青海,2007.螨类休眠体的发育与治理.昆虫学报,50(12):1293-1299.
- 赵捷,韩骁,石娟,2017.低温条件下松材线虫在中国的风险分布区预测.生物安全学报,26(3):15-22.
- 朱诚棋,王博,沈婧,牟静,秦文权,温秀军,2017.松墨天牛综合防治进展.中国植保导刊,37(2):19-24.
- XU Y, LI Y C, HUANG B R, CAI M L, WU J Q, WU S Q, ZHANG F P, 2018. First record of the genus *Paracaropenax* (Acari: Acarophenacidae) from China, with description of a new species. *Systematic and Applied Acarology*, 23(12):2411-2419.

(责任编辑:郭莹)