

昆虫不育技术防治柑橘大实蝇研究概况^{*}

王金涛^{1**} 董永成¹ 李宗楷¹ 黎少波² 牛长缨^{1***}

(1. 华中农业大学植物科技学院 武汉 430070; 2. 武汉中海农用物资有限公司 武汉 430040)

摘要 柑橘大实蝇 *Bactrocera minax* (Enderlein) 是柑橘果树上的重要害虫,我国在 20 世纪 80、90 年代曾经成功利用昆虫不育技术防治柑橘大实蝇的危害。本文从人工饲养、不育昆虫的获取以及野外释放等方面对利用昆虫不育技术防治柑橘大实蝇进行了综述,以期为我国柑橘大实蝇的可持续治理提供参考。

关键词 柑橘大实蝇,昆虫不育技术,生物防治

Overview of the use of the sterile insect technique to control the Chinese citrus fruit fly

WANG Jin-Tao^{1**} DONG Yong-Cheng¹ LI Zong-Kai¹ LI Shao-Bo² NIU Chang-Ying^{1***}

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

2. Wuhan Zhonghai Agricultural Materials Company, Wuhan 430040, China)

Abstract The Chinese citrus fruit fly, *Bactrocera minax* (Enderlein), is one of the most serious pests in *Citrus* spp. In the 1980s and 1990s the sterile insect technique (SIT) was successfully implemented to control *B. minax* in China. In this paper, we have reviewed the management of *B. minax* by SIT with regard to artificial rearing, the sterile technique and the release in the field with a view to facilitating research and development of SIT to control *B. minax* sustainably in the future.

Key words *Bactrocera minax*, sterile insect technique, biocontrol

昆虫不育技术(sterile insect technique, SIT)是一种向野生靶标害虫种群中大量释放不育虫来防治害虫的方法。由于雌虫产卵造成为害或传播疾病,通常 SIT 释放的是不育雄虫。大量不育雄虫与野生雄虫竞争配偶,不育雄虫与野生雌虫交配后将导致雌虫不能产生后代,从而减少下一代害虫的种群数量。通过多次、大量释放不育虫,能够达到遏制或根除整个害虫种群的防治效果(Robinson *et al.*, 2002)。

SIT 技术最先诞生于美国,现已广泛应用于世界各地,在很多国家已建立了不育昆虫的工厂。20 世纪 50 年代,美国首次成功利用 SIT 技术结合大面积害虫综合治理消灭了其东南部的 New World 螺旋蝇 *Cochliomyia hominivorax* (Coq.) (Meadows,

1985), 在以后的 43 年里, SIT 技术先后在美国、墨西哥、中美洲及巴拿马地区消灭了 New World 螺旋蝇 (Dyck *et al.*, 2005)。继防治螺旋蝇成功后, 这项技术也应用于其他双翅目及鳞翅目害虫的防治, 例如地中海实蝇 *Ceratitis capitata* (Wied.) (Linares, 1991)、橘小实蝇 *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Kakinohana, 1994)、瓜实蝇 *Dacus cucurbititae* (Coq.) (Kuba *et al.*, 1996)、墨西哥按实蝇 *Anastrepha ludens* (Loew) (Enkerlin, 1997)、红铃虫 *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Walters *et al.*, 2000)、仙人掌蛾 *Cactoblastis cactorum* (Berg) (Hight *et al.*, 2005) 等。

柑橘大实蝇 *Bactrocera minax* (Enderlein) 属双翅目、实蝇科, 主要分布于我国贵州、湖北、湖南、

* 资助项目:公益性行业(农业)科研专项(200903047)。

**E-mail: wjt217@126.com

*** 通讯作者, E-mail: niuchangying88@163.com

收稿日期:2011-10-29, 接受日期:2012-01-25

四川、陕西、重庆等地,以及国外不丹、印度等国,是柑橘类果树的重要害虫。据报道,受害蛆果损失一般在 10% ~ 20%,严重时高达 60% ~ 90% (鲁红学等,1997)。我国于 1987—1989 年以及 1993、1994 年在贵州省惠水县,利用 SIT 防治柑橘大实蝇取得了初步成效(王华嵩等,1990;王华嵩等,1995a),但是很多工作尚需进一步研究和探索。本文综述了利用 SIT 防治柑橘大实蝇的研究概况。

1 人工饲养

昆虫的大量饲养是 SIT 应用的前提,在实际应用中必须能够生产足够数量的、健康而有竞争能力的不育昆虫。由于柑橘大实蝇是寡食性害虫,食性相对单一,且有滞育特性,目前还没有实现柑橘大实蝇的大规模饲养,用于昆虫不育试验的虫源主要来自于野外搜集大量蛆果,然后在室内饲养至化蛹,再用⁶⁰Co γ 射线辐照致其不育,根据野外种群动态变化适时地释放到野外。这在很大程度上制约了柑橘大实蝇的相关研究。因此,解决柑橘大实蝇的人工饲养问题应该得到足够的重视。

1.1 解除滞育

要解决柑橘大实蝇的人工饲养首先要解决蛹的滞育问题,打破蛹滞育以缩短蛹的发育历期。张小亚(2007)报道柑橘大实蝇蛹历期较长,一般自每年 11 月至翌年 5 月,蛹壳内为淡黄色液体,随温度升高,5 月下旬蛹逐渐羽化,根据柑橘大实蝇复眼、体躯体节和附肢发育特征,将柑橘大实蝇蛹的发育分为 6 级。范京安等(1994)认为柑橘大实蝇滞育性强,以蛹为滞育虫态,必须经历一定的低温滞育阶段才能进一步发育。他认为 6℃ 和自然低温(6.5℃)处理的蛹能解除滞育而羽化为成虫,温度过高(21℃)或过低(3℃)蛹均不能羽化为成虫。罗禄怡和陈长风(1987)认为温度是影响柑橘大实蝇蛹发育的主要生态因子,并测得发育起点温度为 10.57℃,有效积温为 567.90 日·度。

1.2 室内饲养

王华嵩等(1993)初步研究了柑橘大实蝇的人工饲养,使用玻璃纸解决了在人工饲养条件下成虫不产卵的难关。他还改进蛹的收集和保存技术以提高蛹的存活率。在蛹的保存期,即春季羽化

前两个月,蛹体发育迅速,自身对周围环境包括温湿度和通气条件非常敏感,这个时期保存的蛹极易感染死亡。

2 不育昆虫的获取

昆虫不育有以下原因产生:①雌虫不能产卵(不孕);②雄虫不能产生精子(无精)或精子失去功能(精子失活);③雌雄不能交配;④雄虫或雌虫生殖细胞产生显性致死突变。 γ 射线、X 射线、电离辐射和化学不育剂处理昆虫可以诱导上述机制。此外转基因昆虫也是最具潜力的技术,至今国外已有尝试利用转基因昆虫结合 SIT 技术防治害虫。目前,利用 γ 射线辐射诱导不育仍是运用最多的方法。

2.1 辐照虫态、辐照适期和剂量的选择

国内学者对昆虫的不同虫态进行了大量的辐照研究工作。正在发育的机体对射线的作用特别敏感,而后期的蛹或成虫其体细胞的分化阶段已经或接近完成,对辐射抗性较强,且此虫态有不危害农作物的优点,所以通常是照射后期的蛹或成虫(张和琴,1982)。一般来说,照射蛹比较方便,而照射成虫则易获得更健康的成虫。处理蛹还是处理成虫,取决于照射对象本身。王华嵩等(1990)进行野外释放采用的是辐射柑橘大实蝇的蛹。

张维和李元英(1990)根据卵室的形状、大小、卵母细胞与营养细胞体积的比例以及滤泡细胞的分化程度等将柑橘大实蝇卵子发生过程分为 8 个阶段。蛹接近羽化时卵子发育处于对辐射较敏感的原囊时期,利用 60、90、120、150 Gy 辐照羽化前 2 d 的蛹,都能导致雌虫不育,60 Gy 辐照就可使卵母细胞发育受阻,受阻程度随剂量升高而越明显,90 Gy 辐照剂量辐照使卵母细胞发育受阻,大部分停滞于第 4 ~ 5 阶段,少数虽能发育到第 8 阶段,但体积不到正常的 1/4,不能发育为正常的卵。他将雄虫精巢发育与蛹的外部变化联系起来,分为红眼点初、中、晚期和黑眼点蛹期。红眼点初、中期以精原和精母(占 60% 左右)细胞为主;红眼点晚期精原和精母细胞少,精细胞和精子约占 30% ~ 50%;黑眼点蛹期以次级精母细胞为主,精子和成熟精子占 70% 以上。用 45、90、120 Gy 辐照处理羽化前 2 d 的蛹,取成虫精巢解剖观察发现辐照

后雄虫精子形态、数量和活力与未辐照雄虫并没有显著差异,因此选择黑眼点蛹期辐照对精子的活力不会造成影响。

张维和李元英(1991)研究了辐射对精子和卵子发生的影响,结果表明雌虫比雄虫对射线更敏感,利用 90 Gy 辐照剂量辐射羽化前 2 d 的蛹(黑眼点蛹)是较适宜的辐照剂量和辐照时期,既可使雌虫完全不育又不影响精子竞争力。

刘琼茹等(1992)对柑橘大实蝇的适照时期和适宜不育剂量进行了研究,表明 50 Gy 辐照红复眼红翅期蛹(羽化前 3~10 d),其羽化率仅有 35%,而 50、80、120、150 Gy 辐照黑复眼黑翅期蛹(羽化前 2 d),其羽化率与未辐照蛹接近,所以黑复眼黑翅期蛹为柑橘大实蝇的辐照适期。当用 60、90、120、150 Gy 辐照黑复眼黑翅期蛹,对其羽化率没有影响,雌雄成虫的寿命都在 40 d 以上,交尾时间也与野生种群一致。90 Gy 以下剂量辐照雌雄虫后,其交尾率升高,说明 90 Gy 以下剂量辐照能刺激雌雄虫交尾。高达 150 Gy 辐照的雌虫与正常雄虫交尾率未发生变化,表明雌虫辐照后仍然具有较强的吸引雄虫交配的能力。90 Gy 以上剂量辐照成虫对果实的危害率为零。这一点与张维和李元英(1991)的研究结果相符合。

以上研究结果说明,蛹期是比较适宜的处理虫态;黑眼点期蛹(羽化前 2 d)是辐照适期;90 Gy 是适宜的辐照剂量,可导致昆虫不育且不影响其交配能力。

2.2 辐照对染色体的影响

李元英和张维(1992)制作了柑橘大实蝇染色体组型模式图,发现柑橘大实蝇属中等非对称核型,染色体结构为单着丝点,而且染色体数目少($n=6$),个体对射线较敏感。用 45、90、120 Gy 辐照早期蛹导致正在分化的生殖细胞粘连,而辐照黑眼点蛹导致染色体缺失和着丝点畸变,引起细胞分裂受阻。45 Gy 辐照后 24 h,后肠细胞核 DNA 含量逐渐下降,72 h 后逐步回升,2 周后基本恢复正常;而 90 Gy 处理的细胞损伤修复缓慢,DNA 含量始终未能完全修复。辐照后唾腺细胞 DNA 含量变化与肠细胞相似。说明不同细胞在不同剂量辐照损伤后的自我修复能力有所差异(张维等,1995)。

2.3 不育雄虫交配竞争力的评估

辐射不育虫能否保持自然种群的性行为习性,具有与野生虫交尾竞争的能力,是昆虫辐射不育技术的关键。王华嵩等(1990)通过不育虫释放后的诱捕试验表明,在顺风条件下,野生柑橘大实蝇和不育虫都可以飞翔扩散到 1 500 m 远处,说明辐照对柑橘大实蝇的扩散能力没有影响。

柑橘大实蝇雄虫具有集聚在一定的交尾场所与飞来交尾的雌虫竞争交尾的习性。王华嵩等(1995a;1995b)用活的野生雌蝇诱捕到标记的不育雄蝇,说明释放的不育雄蝇的交尾习性没有发生变化,保持了野生雄虫的交尾习性。

3 野外释放

由于柑橘大实蝇雌虫产卵会危害果实,降低果实品质,因此 SIT 技术用于防治柑橘大实蝇最理想的是野外释放不育雄虫。目前,还没有发现柑橘大实蝇具有明显表型特征差别的遗传性别品系,已有的研究是辐射蛹,然后野外释放不育雌雄虫;或者在蛹羽化时根据雌雄成虫外生殖器官差异进行人工选择,取出雌虫后,将雄虫收集起来辐照后释放。释放适期以羽化当天释放效果最好。辐照后的蛹利用荧光素混匀,以标记成虫,便于进行后续的不育昆虫种群动态监测。

1987 年,王华嵩等在贵州省惠水县释放了 56 272 头柑橘大实蝇的不育雄虫,使橘园为害率从往年 5%~8% 下降到 0.20%;1989 年再次释放 95 320 头不育雄虫,为害率由 1988 年的 0.16% 下降到 0.005%,防治效果显著;同时证明了以 12.5:1 到 45:1 的释放比例,释放辐射不育虫可以收到很好的防治效果(王华嵩等,1990)。为进一步验证不育蝇的防治效果,于 1993 年共释放 59.3 万头不育蝇,释放比为 26:1,使 7 个柑橘园的危害率由释放前 3 年平均 5.194% 下降到 0.134%;1994 年共释放不育雄虫 100.2 万头,释放比为 47.7:1,使为害率下降到 0.098%(王华嵩等,1995a),SIT 防治柑橘大实蝇的效果得到证实。

此外,王华嵩等(1993)还研究了释放辐射不育柑橘大实蝇雌虫的效果。结果表明,90 Gy 辐照后的雌虫与野生雌虫相比,对野生雄虫的吸引交配能力更强,说明雌蝇在交尾过程中也具有主动选择作用。1989 年,王华嵩在贵州省惠水县共释放 47 222 头辐射不育的雌虫,果园为害率由 1988 年的 0.55% 下降到 0.003%,取得了与释放不育雄

虫相似的防治效果。

4 展望

SIT 技术的特点在于:对环境友好,对人和其他非靶标生物无害,特异性强,防效持久,是唯一可能在区域内灭绝害虫种群的生物防治手段。虽然我国在利用 SIT 技术防治柑橘大实蝇方面进行了一些初步探索,如王华嵩等(1995a)连续数次利用辐照不育技术在贵州橘园进行了释放不育成虫防治柑橘大实蝇试验,并且取得了较显著的防治效果,但这均是以不计成本和效益为目的而进行的 SIT 防治柑橘大实蝇的初步研究。鉴于昆虫不育技术的实际应用受到高昂成本费用、必须具备大量饲养技术以及辐照不育设备条件等方面的制约,要想使其应用于农业生产实践尚需在以下 3 方面进行深入研究:①人工饲养。柑橘大实蝇的专性滞育特性导致其人工饲养困难,因此,如何打破滞育、缩短其生长周期成了 SIT 技术应用的关键制约因子;在此基础上研究合适的人工饲料以解决其人工饲养问题,将为大规模饲养奠定基础。②蛹期雌雄个体分离。蛹期由于雌雄个体之间没有明显的外部形态差异,因此难以实现快速有效的分离,这势必影响后期野外释放的工作效率。若能发现或筛选出遗传性别品系(genetic sexing strain, GSS)或者利用转基因手段引入性别条件致死基因(周秀娟等,2008),则有望解决该问题。③安全的不育处理技术。导致昆虫不育的手段一般是通过 γ 射线辐照使其不育,如果辐照剂量过高将削弱不育虫的生命力和竞争力(Collins *et al.*, 2008; Kumano *et al.*, 2008),而且需要具有放射性的特殊设备。一些国家或地区处于安全考虑,限制其运输或使用,那么 SIT 技术的应用将大受限制。化学不育不需要大量养虫,成本较低,但是对环境和其他动物有潜在的风险。Mastrangelo 等(2010)研究发现,X 射线在更安全的前提下,同样可以达到在大致相同的辐射剂量下导致昆虫不育的效果,这一点值得在 SIT 防治柑橘大实蝇的研究中进行尝试。随着现代生物技术的飞速发展,利用 SIT 技术防治害虫将成为害虫大面积综合治理中的重要组成部分。

参考文献 (References)

- Collins SR, Weldon CW, Banos C, Taylor PW, 2008. Effects of irradiation dose rate on quality and sterility of Queensland fruit flies, *Bactrocera tryoni* (Froggatt). *J. Appl. Entomol.*, 132 (5):398–405.
- Dyck VA, Hendrichs J, Robinson, 2005. The Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management. Netherlands; Springer. 8–14.
- Enkerlin W, Mumford JD, 1997. Economic evaluation of three alternative control methods of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in Israle, Palestine and Jordan. *J. Econ. Entomol.*, 90:1066–1072.
- Hight SD, Carpenter JE, Bloem S, Bloem KA, 2005. Developing a sterile insect release program for *Cactoblastis cactorum* (Berg) (Lepidoptera: Pyralidae): effective overflooding ratios and release-recapture field studies. *Environ. Entomol.*, 4(34):850–856.
- Kakinohana H, 1994. Fruit Flies and the Sterile Insect Technique. USA: CRC Press. 223–226.
- Kuba H, Kohama T, Kakinohana H, Yamagishi M, Kinjo K, Sokei Y, Nakasone T, Natamoto Y, 1996. The successful eradication programs of the melon fly in Okinawa// McPherson BA, Steck GJ (eds.). Fruit Fly Pests. USA, St. Lucie Press. 543–550.
- Kumano N, Haraguchi D, Kohama T, 2008. Effect of irradiation on mating performance and mating ability in the West Indian sweet potato weevil, *Euscepes postfasciatus*. *Entomol. Exp. Appl.*, 127(3):229–236.
- Linares F, 1991. Medfly program in Guatemala and Mexico: Current situation//The International Symposium on the Biology and Control of Fruit Flies, Japan. 44–51.
- Mastrangelo T, Parker AG, Jessup A, Pereira R, Orozco-Davila D, Islam A, Dammalage T, Walder JMM, 2010. A new generation of X ray irradiators for insect sterilization. *J. Econ. Entomol.*, 103(1):85–94.
- Meadows ME, 1985. Eradication programme in the southeastern United States//Graham OH (ed.). Symposium on Eradication of the Screwworm from the United States and Mexico. Misc. Publication. 62:8–11.
- Robinson AS, Cayol JP, Hendrichs J, 2002. Recent findings on medfly sexual behavior: Implications for SIT. *Fla. Entomol.*, 85:177–181.
- Walters ML, Staten RT, Roberson RC, 2000. Pink bollworm integrated management using sterile insects under field trial conditions, Imperial Valley, California. FAO/IAEA International Conference on Area Wide Control of Insect Pests International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance. Penang (Malaysia). 201–206.

- 范京安, 赵学谦, 朱军, 1994. 柑桔大实蝇 (*Tetradacus citri* Chen) 耐寒及滞育性研究. 西南农业大学学报, 16(6): 532 – 534.
- 李元英, 张维, 1992. 柑橘大实蝇辐射不育机理的研究. 生物防治通报, 8(1): 9 – 12.
- 刘琼茹, 赵才道, 黎怀燮, 胡朝辉, 1992. 柑橘大实蝇 *Dacus citri* (Chen) 辐射效应的研究. 核农学报, 6(1): 45 – 50.
- 鲁红学, 何开平, 阮华芳, 牟本忠, 1997. 柑桔大实蝇生物学特性的研究. 湖北农学院学报, 17(3): 169 – 173.
- 罗禄怡, 陈长风, 1987. 柑桔大实蝇蛹的生物学特性. 中国柑桔, (4): 9 – 10.
- 王华嵩, 胡建国, 路大光, 康文, 张和琴, 1995a. 利用辐射不育技术防治柑桔大实蝇的示范试验. 中国生物防治, 11(4): 156 – 159.
- 王华嵩, 胡建国, 路大光, 康文, 张和琴, 1995b. 辐射不育柑桔大实蝇田间交尾习性的研究. 核农学通报, 16(5): 210 – 211.
- 王华嵩, 赵才道, 康文, 胡建国, 张和琴, 储吉明, 1993. 辐射不育雌柑桔大实蝇释放效果. 核农学通报, 14(1): 26 – 28.
- 王华嵩, 赵才道, 黎怀燮, 楼洪章, 刘琼茹, 康文, 胡建国, 张和琴, 储吉明, 夏大荣, 杨荣新, 1990. 辐射不育技术防治柑桔大实蝇的效果. 核农学报, 4(3): 135 – 138.
- 张和琴, 1982. 昆虫辐射不育研究中的若干问题. 核农学报, (2): 1 – 5.
- 张维, 康文, 李元英, 1995. $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线辐照对柑桔大实蝇 (*Dacus citri*) 染色体影响的研究. 核农学报, 9(4): 203 – 206.
- 张维, 李元英, 1990. $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线对柑橘大实蝇 *Dacus citri* 雌虫生殖细胞的影响. 核农学报, 4(2): 115 – 119.
- 张维, 李元英, 1991. $^{60}\text{Co}\gamma$ 射线对柑橘大实蝇 *Dacus citri* 雄虫生殖细胞的影响. 核农学报, 5(2): 79 – 82.
- 张小亚, 2007. 柑橘大实蝇 (*Bactrocera minax*) 生物学、行为学及防治研究. 硕士学位论文. 武汉: 华中农业大学.
- 周秀娟, 牛长缨, 雷朝亮, 2008. 转基因昆虫的应用研究进展. 昆虫知识, 45(3): 368 – 373.