

斑翅果蝇求偶行为的研究*

熊 焰^{1,2**,***} 施 米^{2**} 张金平³ 张 峰³ 李 萍⁴ 肖 春²

(1. 陇东学院生命科学与技术学院, 庆阳 745000; 2. 云南农业大学植物保护学院, 昆明 650201; 3. 中国农业科学院植物保护研究所, 农业农村部-CABI 生物安全联合实验室, 北京 100193; 4. 全国农业技术推广服务中心, 北京 100125)

摘 要 【目的】明确斑翅果蝇 *Drosophila suzukii* 求偶行为的特征及过程、视觉因素与信息素粗提物在求偶行为中的作用。【方法】在室内条件下[温度 (24 ± 1) °C、相对湿度 65% ± 5%, 光周期 14L : 10D], 通过一系列的行为实验观察斑翅果蝇的求偶行为特征及过程。【结果】雄虫的求偶特征为当雌雄虫相遇前或相遇时, 雌虫腹部末端翘起, 雄虫转向追逐雌虫且翅膀展开; 当雌虫静止时, 雄虫在雌虫前方展开翅膀并伴随翅膀振动, 之后雄虫绕到雌虫侧面, 使用前足触碰雌虫并很快返回雌虫前方展开翅膀, 随后绕到雌虫尾部弯曲腹部试图进行交配。3 日龄雌虫的求偶行为次数最多, 为 (127.4 ± 10.0) 次, 且求偶高峰期出现在进入光照期后的 3-4 h 时段内, 为 (59.2 ± 5.4) 次。与单一因素相比, 未交配雌虫卵巢粗提物与死亡虫体共同作用时能够显著激发雄虫的求偶行为。进一步观察结果显示, 卵巢粗提物对斑翅果蝇未交配雄虫具有显著的引诱效果, 但仅有卵巢粗提物出现时并不能显著增强雄虫求偶行为。【结论】能引起斑翅果蝇雄虫求偶的化学物质(性信息素)存在斑翅果蝇雌虫卵巢中, 视觉因素和性信息素联合作用才能显著增强雄虫的求偶行为。

关键词 斑翅果蝇; 求偶行为; 视觉因素; 性信息素

The courtship behavior of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae)

XIONG Yan^{1,2**,***} SHI Mi^{2**} ZHANG Jing-Ping³ ZHANG Feng³ LI Ping⁴ XIAO Chun²

(1. College of Life Science and Technology, Longdong University, Qingyang 745000, China; 2. College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 3. MARA-CABI Joint Laboratory for Bio-safety, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 4. National Agro-technical Extension and Service Centre, Beijing 100125, China)

Abstract 【Objectives】To clarify the courtship behavior of *Drosophila suzukii*, the role of vision and crude pheromone extracts in courtship behavior. 【Methods】A series of behavioral experiments were conducted under indoor conditions [temperature (24 ± 1) °C, relative humidity 65% ± 5%, photoperiod 14L : 10D] to determine the courting behavior characteristics of *D. suzukii*. 【Results】The courtship behavior characteristics of males are as follows: when the female and male meet before or when they meet, the end of the female's abdomen is raised, males approached females, following them and performing a wing scissoring display; When the female is stationary, the male spreads and vibrates in front of the female, then the male circles around the side of the female, touches the female with the front feet and quickly returning to his former position, then goes around the tail of the female and attempts to mate with his abdomen bent down and forward. The number of courtship behaviors performed per day by female 3 day-old instars (127.4 ± 10.0) was significantly higher than the number performed by younger or older instars, and the courtship peak period [(59.2 ± 5.4) times] observed between 3 h and 4 h after the start of the light-period than during the rest of the light-period. Compared with a single factor, the combined action of the female body eluent and the dead body can significantly stimulate the male's courtship behavior. Further observations showed that crude ovarian extracts had a significant attracting effect on unmated males of *D. suzukii*, but the presence of ovarian

*资助项目 Supported projects: 云南省科技厅重大科技专项 (202102AE090006); 欧盟第七框架计划 (Dropsa, 613678)

**共同第一作者 Co-first authors, E-mail: xyan891@163.com; sm980314@126.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: xyan891@163.com

收稿日期 Received: 2021-01-20; 接受日期 Accepted: 2021-07-20

extracts alone did not significantly enhance courtship behavior of males. **[Conclusion]** Pheromones in the ovaries of *D. suzukii* females, together with visual cues, play an important role in inducing male courtship behavior.

Key words spotted wing drosophila, courtship behavior, visual cues, sex pheromone

昆虫的性行为是两性个体为了交配成功在接触过程中产生的一种特殊的行为,其中求偶行为是昆虫性行为的中重要的一种行为(Roelofs and Carde, 1977; Landolt and Heath, 1990)。关于双翅目昆虫生殖行为的研究主要集中在性信息素的分离和鉴定(Wicker-Thomas, 2007),而对性行为的系统观察如两性召唤与识别、行为与性信息素释放等方面的研究不多,主要的研究集中在果蝇(*Drosophila*) (Droney and Hock, 1998; Dweck *et al.*, 2015)和实蝇(Tephritidea)上(Landolt *et al.*, 1992; Zhang *et al.*, 2019)。例如,实蝇类昆虫的性行为过程包括雄虫聚集释放性信息素→吸引雌虫→雌虫选择雄虫→两性交配行为等(Landolt *et al.*, 1992)。其中实蝇类性信息素多由直肠产生并在求偶时释放到体外(Bellas and Fletcher, 1979; Zhang *et al.*, 2019)。而在家蝇 *Musca domestica* 和酪蝇 *Piophilha casei* 等昆虫中,性信息素则由卵巢产生(Dillwith *et al.*, 1983; Jiang *et al.*, 2002; 崔霄等, 2016; 李颖等, 2019)。果蝇作为双翅目昆虫中的重要类群,其种类繁多,性行为复杂,且绝大多数种类均为腐食性种类,即成虫只在果园的落果、腐烂果(皮)上产卵,幼虫在烂果内取食、生长,如黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 等(Keeseey *et al.*, 2019)。有关黑腹果蝇行为学的研究表明,其性行为受到物理(包括视觉与听觉)和化学因素的影响,而化学因素对其性行为的影响占据主导地位(Ewing, 1983; Cobb and Jallon, 1990; Ferveur, 1996; Mazzoni *et al.*, 2013; Agrawal *et al.*, 2014)。斑翅果蝇 *Drosophila suzukii* 是果蝇类昆虫中目前已知的、可严重为害新鲜浆果类作物的种类(Goodhue *et al.*, 2011)。Revadi 等(2015)率先开展斑翅果蝇性行为的研究,并发现在两性交配过程中,雄性表现出对雌性的主动追逐行为;如果雌性接受雄性,则可以完成交配行为。研究结果同时也显示,体表碳氢化合物(Cuticular hydrocarbons, CHCs)会随着

雌虫日龄而变化。然而,他们未鉴定出斑翅果蝇的雌性信息素,因为从雌虫表皮没有鉴定出任何有活性的 CHCs。因此,Revadi 等(2015)认为:CHCs 并不是雄性求偶时所必须的。而 Snellings 等(2018)虽然从成虫体壁中鉴定出了数种 CHCs,但这些 CHCs 组分却对两性求偶行为表现出抑制作用。另外,Dekker 等(2015)的研究也显示,在斑翅果蝇体内不存在黑腹果蝇属雄性产生的类性信息素 *cis-vaccenyl acetate*。

但是,在斑翅果蝇两性交配行为中,究竟是何种性别首先表现出求偶行为、性信息素是否存在并发挥作用、视觉因素是否在其中也发挥着作用?基于此,本文通过行为观察实验明确斑翅果蝇两性成虫的求偶行为特征、通过行为选择实验明确性信息素粗提物产生的部位以及通过行为对比实验明确视觉因素在两性求偶中的作用,以为斑翅果蝇性信息素的鉴定及其防治提供基础。

1 材料与方法

1.1 昆虫饲养

从野外采回被斑翅果蝇危害的野生樱桃 *Pruns pseudocerasus*, 在室内将樱桃置于养虫笼(35 cm×35 cm×35 cm)。成虫羽化后取 50 对同日龄个体置于干净养虫笼中,在养虫笼中放入去皮香蕉以供成虫取食及产卵(刘燕等, 2017b)。将每天更换的香蕉置于另外的养虫笼中直至幼虫化蛹。将香蕉表面的蛹取出并单头置于玻璃指形管($\phi = 2$ cm, $h = 4$ cm)中封装保存。待成虫羽化后用于行为观察。室内环境条件为:温度(24 ± 1)℃、相对湿度 $65\% \pm 5\%$,光周期 14L:10D。

1.2 斑翅果蝇的首次交配行为测定

将同时段羽化的斑翅果蝇雌虫和雄虫各 1 头放入到一个玻璃容器中($\phi = 2$ cm, $h = 10$ cm),

记录羽化时间。在光期内 (6:00-20:00), 在光周期内 (6:00-20:00) 持续观察并记录斑翅果蝇首次交配的时间、交配持续时间。每次观察 50 对成虫。重复 4 次。

1.3 斑翅果蝇成虫求偶行为的测定

选择斑翅果蝇未交配的 3 日龄雌虫 1 头放入玻璃容器中 ($\phi = 2\text{ cm}$, $h = 10\text{ cm}$)。在光期开始后的 3 h 和 4 h 内, 观察并记录斑翅果蝇雌虫可能的求偶行为。重复 20 次。

选择斑翅果蝇未交配 3 日龄雌虫和雄虫各 1 头放入到玻璃容器中 ($\phi = 2\text{ cm}$, $h = 10\text{ cm}$)。在光周期内 (6:00-20:00), 以每分钟观察一次的频率记录斑翅果蝇的求偶过程、雌虫求偶行为和雄虫求偶特征, 发生交配则观察结束。结合未交配雌虫单头的行为, 明确斑翅果蝇未交配雌虫的求偶行为特征。重复 20 次。

1.4 斑翅果蝇未交配雌虫求偶节律观察

将 1 头未交配雌虫放入指形管 ($\phi = 2\text{ cm}$, $h = 10\text{ cm}$) 中。在进入光照期后, 每分钟观察一次雌虫的求偶行为。若 1 min 内雌虫表现出求偶行为则持续观察 10 s 至雌虫不再求偶, 若 1 min 内雌虫未表现出求偶行为则 1 min 后再次观察。雌虫腹部末端上翘被视为求偶行为。参考上述的方法, 观察并记录 2-6 日龄未交配雌虫 (每个日龄 $n = 20$) 在光期内求偶行为的次数, 以明确未交配雌虫求偶次数与日龄的关系。

使用上述测试方法观察并记录 3 日龄未交配雌虫 ($n = 20$) 在光照期不同时段内 (1-2、3-4、5-6、7-8、9-10、11-12 和 13-14 h) 的求偶次数。

1.5 斑翅果蝇未交配雄虫对雌虫信息素粗提物的行为反应测定

取 125 头 3 日龄未交配雌虫, 解剖并取出卵巢, 将卵巢置于二氯甲烷中浸泡 24 h, 获得相对浓度为 2.5 卵巢/10 μL (Ovary equivalent/10 μL , OE/10 μL) 的粗提物。以相同的方法获得相对浓度为 2.0、1.5、1.0 和 0.5 OE/10 μL 的未交配雌虫卵巢粗提物和 2.5、2.0、1.5、1.0 和 1.5 OE/10 μL 的已交配雌虫卵巢粗提物。

利用上述方法, 获得相对浓度为 2.5 直肠/10 μL (Recta equivalent/10 μL , RE/10 μL)、2.0、1.5、1.0 和 0.5 RE/10 μL 已交配/未交配雌虫直肠粗提物。

另外, 分别将 125 头 3 日龄未交配、6 日龄已交配的雌虫在二氯甲烷中浸泡 30 s, 获得相对浓度为 2.5 头/10 μL (Insect equivalent/10 μL , IE/10 μL) 未交配/已交配雌虫表皮粗提物。使用相同的方法, 制备 2.0、1.5、1.0、和 0.5 IE/10 μL 未交配或交配的雌虫表皮粗提物。

将所有粗提物冷藏 ($-10\text{ }^{\circ}\text{C}$) 备用。

1.5.1 斑翅果蝇雄虫对粗提物的定向行为测定

采用 Y 型嗅觉仪 (茎长 15 cm; 臂长 20 cm; 内径均为 2 cm; 两臂间夹角为 30°) 对测试未交配雄虫对粗提物的选择性 (刘燕等, 2017a)。取 10 μL (1 IE 剂量) 的粗提取物作为处理, 10 μL 二氯甲烷作为对照。通过侧壁的气流速度都保持在 10 mL/min。每次测试 1 头成虫的反应, 测试时间 20 min。共测试 50 头成虫。室内环境条件同 1.1 昆虫饲养。

1.5.2 斑翅果蝇未交配雄虫对卵巢粗提物的求偶行为反应测定 在一玻璃容器 ($\phi = 2\text{ cm}$, $h = 10\text{ cm}$) 放入一张载有 10 μL (即 1 OE) 剂量的滤纸, 随后将 1 头 3 日龄未交配雄虫置于该玻璃容器中。在进入光周期后 3 h 观察雄虫的求偶行为反应。每次观察持续 20 min。另设对照。重复 20 次。

1.6 斑翅果蝇未交配雄虫对视觉因素的行为反应测定

1.6.1 雄虫对活体雌虫的求偶行为反应 进入光照期 3 h 后, 将 1 头 3 日龄处女雌虫置于一不透明的塑料容器 ($\phi = 2\text{ cm}$, $h = 0.9\text{ cm}$) 中, 之后用纱布封住开口。塑料容器壁上有开孔 ($\phi = 0.1\text{ cm}$) 便于气味流通。之后将该塑料容器放置于一玻璃容器 ($\phi = 10\text{ cm}$, $h = 1\text{ cm}$) 中。最后在玻璃容器中引诱 1 头同日龄雄虫。观察雄虫的求偶行为反应次数。观察时间约 60 min。另以无塑料容器为对照。重复 20 次。

1.6.2 雄虫对死亡雌虫的求偶行为反应 将数

头 3 日龄未交配雌虫在低温下 (- 40 °C) 冻死, 然后用二氯甲烷清洗虫体 3 次 (每次 30 s) 以去除雌虫体表气味。取 1 头虫体置于滤纸 ($\phi = 1\text{cm}$) 上, 随后将滤纸置于玻璃容器 ($\phi = 10\text{cm}$, $h = 1\text{cm}$) 内。将 1 头 3 日龄未交配雄虫引入玻璃容器, 观察雄虫的求偶行为次数。每次观察持续 60 min。另设空白对照。重复 20 次。

1.7 斑翅果蝇未交配雄虫对卵巢粗提物与死亡虫体组合的求偶行为反应测定

在进入光照期 3 h 后, 将 1 头除去体表气味的死亡雌虫体 (处理方法同 1.6.2) 置于滤纸上, 在虫体上滴上 10 μL (1 OE 当量) 卵巢粗提物。待溶剂挥发后将虫体置于玻璃培养皿内 ($\phi = 10\text{cm}$, $h = 1\text{cm}$) 观察求偶行为。每次观察持续 60 min。共观察 20 头雄虫的求偶行为。另设对照。重复 4 次。

1.8 数据处理

数据分析使用 SPSS17.0 (显著性差异水平为 0.05), 并且数据以均值 $\pm$ 标准误 (Mean $\pm$ SE) 呈现出来。所有使用单因素方差分析 (ANOVA) 的数据都要使用 Levene's 检验进行方差同质性检验。在进行数据比较之前, 使用平方根对所有的数据数值进行转换。通过单因素方

差分析比较不同日龄和特定光周期下雌虫求偶行为的次数, 然后通过 Tukey 检验进行多重比较。使用二项式检验分析 Y 型嗅觉仪生物测定法的数据, 基于斑翅果蝇雄虫对于嗅觉仪的两个侧臂没有偏好。通过独立样本 T 检验对斑翅果蝇雄虫对粗提物的求偶反应, 视觉作用的数据, 以及未交配雄虫对视觉与嗅觉结合的求偶百分比数据进行分析。

2 结果与分析

2.1 斑翅果蝇的首次交配行为

斑翅果蝇首次交配在羽化后 20.72-47.97 h 均可发生, 其平均值为 (33.07 ± 0.52) h; 而首次交配持续时间在 19-42 min 之间, 均值为 (26.24 ± 0.42) min (表 1)。在光期内, 斑翅果蝇羽化后的首次交配均有发生 (图 1)。在光期开始 1 h 内, 首次交配的斑翅果蝇数量最多, 达到 (21.5 ± 0.7) 次, 在光期开始 3 h 内呈现降低的趋势, 且在光期内保持较低的趋势 (图 1)。在光期开始 1 h 和 2 h 内斑翅果蝇首次交配的数量显著的高于其它时段内的数量 ($F = 153.029$, $P < 0.001$); 且在光期开始 1 h 内斑翅果蝇首次交配的数量显著高光期开始后 2 h 内的数量 ($P < 0.001$)。

表 1 斑翅果蝇首次交配特征

Table 1 The first mating characteristics of *Drosophila suzukii*

首次交配特征 The first mating characteristics	均值 $\pm$ 标准误 Mean $\pm$ SE	极小值 Min	极大值 Max
首次交配的时间 (h) Time from emergence to first mating (h)	33.07 ± 0.52	20.72	47.97
首次交配持续时间 (min) Duration of first mating (min)	26.24 ± 0.42	19.00	42.00

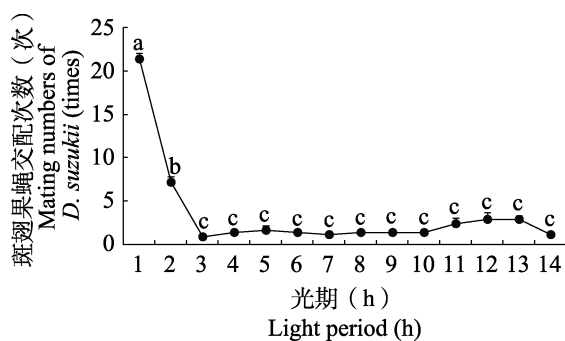


图 1 斑翅果蝇首次交配节律

Fig. 1 First mating rhythm of *Drosophila suzukii*

2.2 斑翅果蝇成虫的求偶行为

斑翅果蝇雌虫单独存在时, 除了站静止或爬行外还存在着其它的行为, 如腹部末端上翘、翅膀震动、后足互搓等。斑翅果蝇雌虫和雄虫共处时, 雄虫表现出定向、振翅、腹部向前弯曲、前足互搓、前足抱窝雌虫和前足触碰雌虫等行为, 并会追逐雌虫; 而雌虫腹部末端上翘、翅膀震动、后足互搓等行为均会表现出来。但是, 并非雌虫和雄虫每次相遇时, 雄虫会表现出追逐行为; 当

雌虫雄虫相遇时,雌虫腹部末端上翘后,雄虫会表现出追逐雌虫的行为,并伴随着定向、振翅、腹部向前弯曲和前足抱窝雌虫的行为。因此,斑翅果蝇雌虫求偶行为特征是腹部末端上翘;而雄虫的求偶行为特征为定向、振翅、腹部向前弯曲和前足抱窝雌虫。

2.3 斑翅果蝇未交配雌虫求偶节律

2.3.1 斑翅果蝇雌虫求偶次数与日龄的关系 斑翅果蝇未交配雌虫求偶行为的次数随着日龄的增长而变动,3日龄雌虫求偶次数最多,为可达 (127.4 ± 10.0) 次(图2),显著的高于其它日龄雌虫的求偶行为次数($F = 23.404$, $df = 4, 95$, $P < 0.001$)。

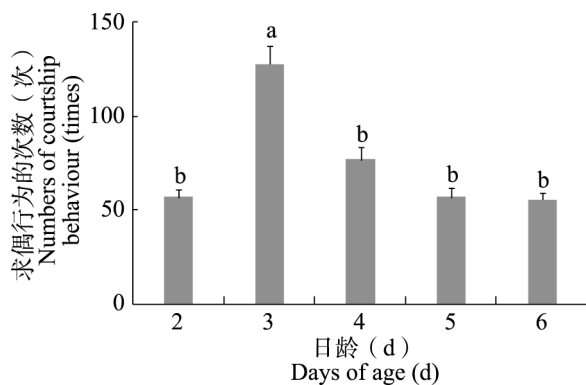


图2 斑翅果蝇未交配雌虫在不同日龄求偶行为的次数
Fig. 2 Day-number of courtship behavior of virgin female of *Drosophila suzukii* from the 2 days instar to the 6 days instar

柱上标有不同字母表示在 0.05 水平上存在显著性差异(单因素方差分析)。图3同。

Histograms with different lowercase letters indicate significant differences at 0.05 level by one-way ANOVA test. The same as Fig. 3.

2.3.2 3日龄斑翅果蝇未交配雌虫在的求偶节律 雌虫求偶行为出现在在光期开始后的 1-10 h 时段内,并在 3-4 h 时段内为求偶高峰期。在进入光照后期 11-14 h 时段内无求偶行为发生(图3)。

2.4 斑翅果蝇未交配雄虫对雌虫粗提物的行为反应

2.4.1 斑翅果蝇未交配雄虫对雌虫卵巢粗提物的选择反应 从实验结果看出,雄虫对未交配雌

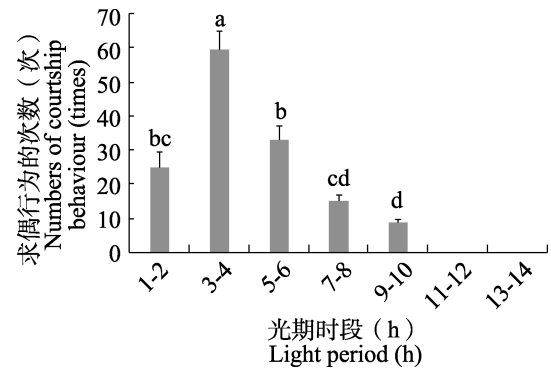


图3 3日龄斑翅果蝇未交配雌虫求偶节律
Fig. 3 Courtship rhythm of the 3-day-old instar virgin females of *Drosophila suzukii*

虫卵巢粗提物反应表现出显著的选择性,但是这种选择性只表现在低浓度粗提物上,如雄虫对浓度为 0.5 OE 和 1.0 OE 的雌虫卵巢粗提物反应的数量显著高于其相应对照的雄虫反应数量($P < 0.05$)(图4: A)。然而,雄虫对已交配雌虫卵巢粗提物未表现出显著选择性($P > 0.05$)(图4: B)。

2.4.2 斑翅果蝇未交配雄虫对雌虫直肠粗提物的选择反应 对于未交配雌虫直肠粗提物的 5 个测试浓度,3日龄斑翅果蝇未交配雄虫均未显示在处理和对照之间的偏好($P > 0.05$);(图5: A)。对于已交配雌虫直肠粗提物的 5 个浓度,3日龄斑翅果蝇未交配雄虫均未显示在处理和对照之间的偏好($P > 0.05$;图5: B)。

2.4.3 斑翅果蝇未交配雄虫对雌虫直肠粗提物的选择反应 对于未交配雌虫表皮粗提物的 5 个测试浓度,3日龄斑翅果蝇未交配雄虫均未显示在处理和对照之间的偏好($P > 0.05$;图5: A)。3日龄斑翅果蝇未交配雄虫对已交配雌虫表皮粗提物均未显示在处理和对照之间的偏好($P > 0.05$;图5: B)。

2.5 斑翅果蝇未交配雄虫对未交配雌虫卵巢粗提物的求偶反应

未交配雄虫对卵巢粗提物求偶反应次数高于对照(二氯甲烷)求偶反应的次数,但,未交配雄虫求偶反应的次数处理和对照之间无显著性差异($t = 1.611$, $df = 38$, $P = 0.115 > 0.05$;图7)。

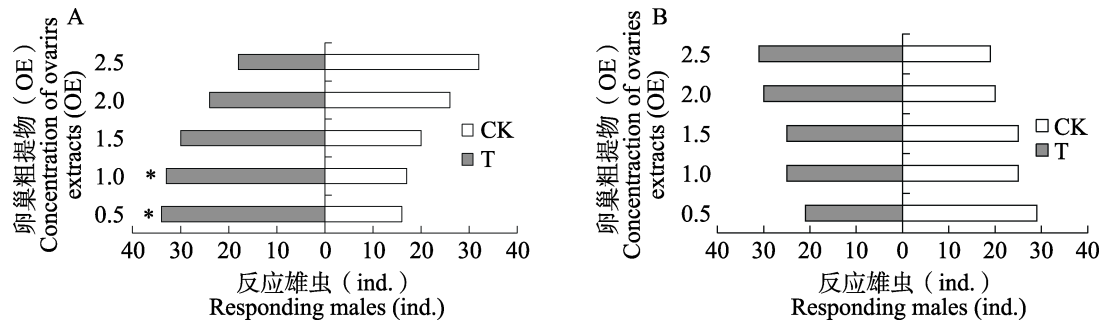


图 4 3 日龄斑翅果蝇未交配雄虫对雌虫卵巢粗提物的选择反应

Fig. 4 Choice responses of the 3-day-old instar virgin females of *Drosophila sukuzii* to the crude extracts from female ovaries

A. 未交配雌虫提取物; B. 已交配雌虫提取物。T: 粗提取物; CK: 二氯甲烷。*表示显著差异, ns 表示差异不显著, 显著性水平为 0.05, **表示在 0.01 水平上差异显著 (独立样本 *t* 检验)。下图同。

A. Extracts from virgin females; B. Extracts from mated females. T: Crude extracts; CK: Dichloromethane. * indicate significant difference at the level of 0.05; ** indicate significant differences at the level of 0.01 level; ns indicates no significant difference at the level of 0.05 by independent-samples *t*-test. The same below.

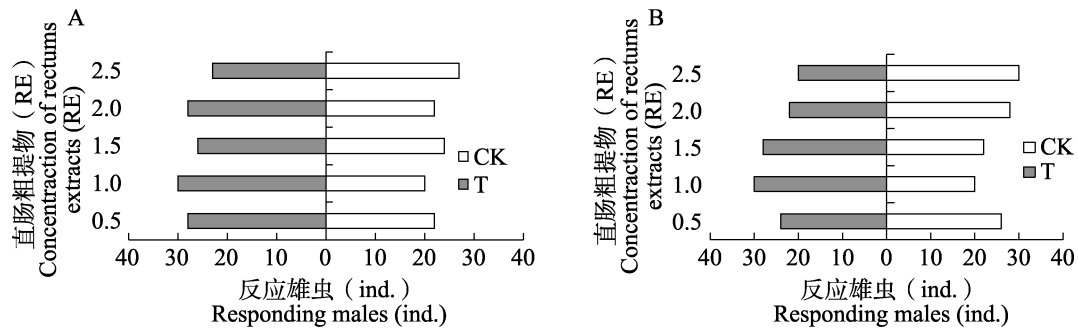


图 5 3 日龄斑翅果蝇未交配雄虫对雌虫直肠粗提物的选择反应

Fig. 5 Choice responses of the 3-day-old instar virgin females of *Drosophila sukuzii* to the crude extracts from female rectums

A. 未交配雌虫提取物; B. 已交配雌虫提取物。T: 粗提取物; CK: 二氯甲烷。

A. Extracts from virgin females; B. Extracts from mated females. T: Crude extracts; CK: Dichloromethane.

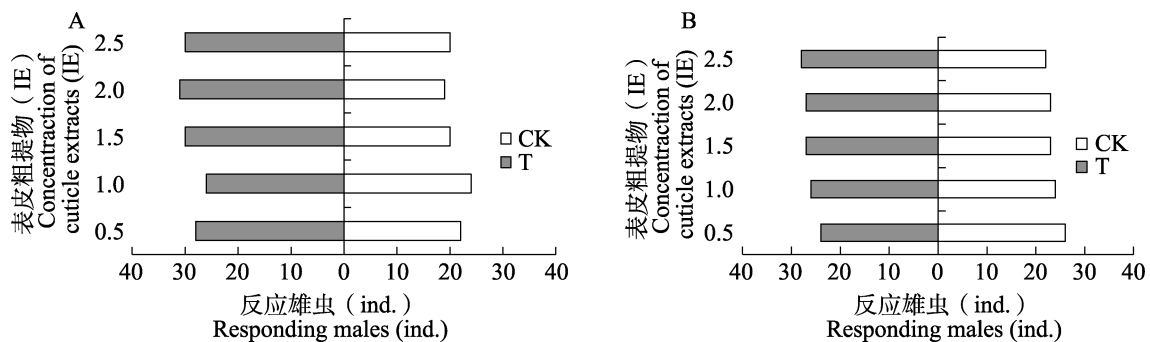


图 6 3 日龄斑翅果蝇雄虫对雌虫表皮粗提物的选择反应

Fig. 6 Choice responses of the 3-day-old instar virgin females of *Drosophila sukuzii* to the crude extracts from cuticles of females

A. 未交配雌虫提取物; B. 已交配雌虫提取物。T: 粗提取物; CK: 二氯甲烷。

A. Extracts from virgin females; B. Extracts from mated females. T: Crude extracts; CK: Dichloromethane.

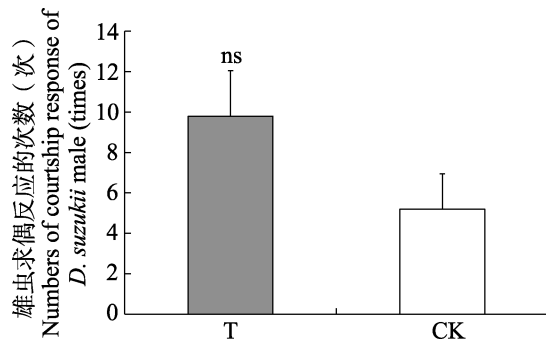


图 7 斑翅果蝇未交配雌虫卵巢粗提取物对未交配雄虫求偶次数的影响

Fig. 7 Effects of the presence of crude extract of virgin female ovaries on the times of courtship of *Drosophila suzukii* virgin males

T: 粗提取物; CK: 二氯甲烷。

T: Crude extracts; CK: Dichloromethane.

2.6 视觉对斑翅果蝇未交配雄虫行为的影响

活体雌虫存在的条件下,当雌虫处于雄虫视野中(雌虫未被隔离)时,斑翅果蝇未交配雄虫跟随雌虫并尝试求偶,但雌虫不在雄虫视野中(雌虫被隔离)时,雄虫只会接近雌虫所在的位置而不表现出求偶行为。活体雌虫存在时,雄虫视野中有雌虫状态下的求偶行为次数极显著的多于雄虫视野中无雌虫状态下的求偶行为次数($t = 7.712$, $df = 19$, $P < 0.001$; 图 8)。死亡雌虫存在的条件下,当雌虫在雄虫视野中与雌虫不在雄虫视野中时,雄虫的求偶行为次数之间无显著性差异($t = 0.588$, $df = 38$, $P = 0.560 > 0.05$; 图 9)。

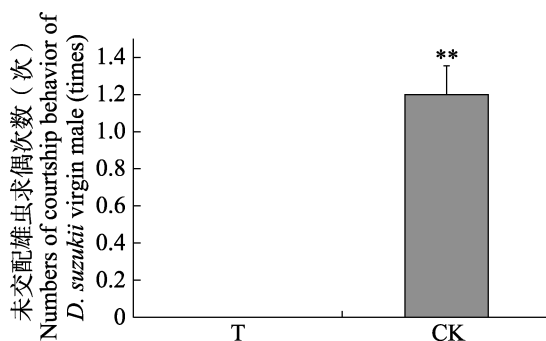


图 8 活体雌虫存在时,视觉对斑翅果蝇未交配雄虫求偶次数的影响

Fig. 8 Courtship behavior of virgin males when a live-virgin-female with its own specific odor in visible

T: 雌虫不可见; CK: 雌虫可见。

T: The female invisible; CK: The female visible.

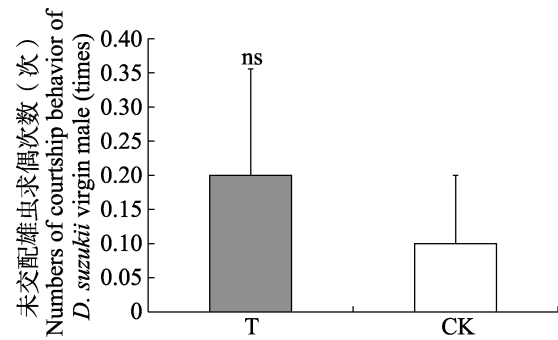


图 9 死亡雌虫存在时,视觉对斑翅果蝇未交配雄虫求偶次数的影响

Fig. 9 Courtship behavior of virgin males when a dead-virgin-female without its own specific odor in visible

T: 二氯甲烷清洗过的雌虫虫体; CK: 无虫体。

T: A female washed by dichloromethane;

CK: Without female body.

2.7 卵巢粗提取物+雌性虫体组合对雄虫求偶行为的影响

斑翅果蝇未交配雄虫对被二氯甲烷清洗的雌虫的求偶反应率(翅膀张开朝向雌虫)非常低,仅有 10%。相比之下,未交配雄虫对清洗的雌虫尸体结合卵巢提取物的求偶反应率可达到 45%,极显著的高于其对被二氯甲烷清洗的雌虫的求偶反应率($t = 8.573$, $df = 6$, $P < 0.001$; 图 10)。

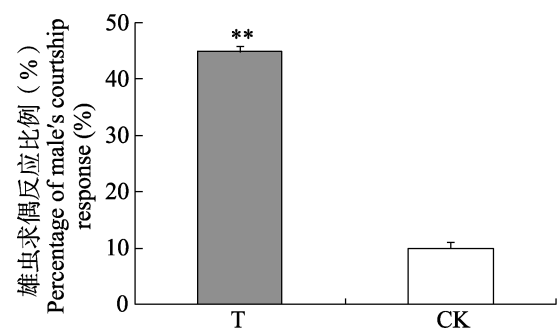


图 10 斑翅果蝇未交配雄虫对不同处理的未交配雌虫尸体的求偶反应比例

Fig. 10 Percentage of courtship response of *Drosophila suzukii* virgin males towards dead virgin female with different treatments

T: 清洗的雌虫尸体结合卵巢粗提液;

CK: 清洗的雌虫尸体结合溶剂。

T: Washed female in combination with crude extracts from virgin ovaries; Control: Washed female in combination with dichloromethane.

3 讨论

果蝇科中的成虫, 在雌虫接受配偶之前, 雄虫必须显示一组特定于物种的求偶显示信号 (Spieth, 1974)。斑翅果蝇雄虫表现出几种独特的求偶特征 (定向, 翅膀展开和合拢, 腹部颤抖, 触碰雌虫和固定雌虫), 与其他果蝇的行为一致 (Spieth, 1974)。在本研究的斑翅果蝇雌雄虫求偶特征观察实验中, 雄虫的求偶行为和雌虫接受或拒绝交配的行为与 Revadi 等 (2015) 描述的一致; 但是, 并不是每次雌雄虫相遇时雄虫均会追逐雌虫并对雌虫产生求偶行为, 而只有雌雄虫相遇前或相遇时, 雌虫腹部末端上翘才能够引起雄虫的求偶行为, 而此现象未见 Revadi 等 (2015) 报道。而雌雄虫在求偶过程中的追逐则表明性信息素产生的性别, 如黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 雄虫追逐雌虫, 并且其求偶强度 (即典型的双翼振动) 受到雌虫产生的刺激强度的影响 (Jallon and Hotta, 1979), 随后从雌虫表皮中鉴定出了活性化合物 (Antony and Jallon, 1982)。正如本实验在求偶过程开始时所观察到的, 斑翅果蝇雌虫首先腹部末端上翘, 然后雄虫转头向雌虫靠近, 这表明雌虫性信息素是通过雌虫自主释放以吸引雄虫求偶。

本研究以雌虫的求偶行为 (腹部末端上翘) 作为特征, 观察并记录了雌虫求偶行为在光周期内的分布, 结果显示斑翅果蝇未交配雌虫的求偶行为在光期开始后的 3-4 h 表现出更为活跃的求偶行为。该结果与 Revadi 等 (2015) 观察到的在光期前三小时的交配行为更加密集结论较为一致。而这两种结果的细小的差别是由于交配会降低雌虫的求偶行为所导致的 (Laturney and Billeter, 2016)。斑翅果蝇未交配雌虫的求偶行为与日龄关系的观察实验显示 3 日龄的未交配雌虫表现出更多的求偶行为。此结果与 Revadi 等 (2015) 发现的 3 日龄的雌雄虫交配行为最多的结果一致。有趣的是, 黑腹果蝇属昆虫大多在夜间经常进行求偶行为 (Hardeland, 1972), 而斑翅果蝇则是白天求偶。这种特定于物种的求偶和交配行为可能有助于果蝇物种之间的生殖

隔 (Sakai and Ishida, 2001)。

众所周知, 双翅目中性信息素的产生位置有很大不同。例如, 食蝇科中的直肠腺体, 黑腹果蝇中的角质层和雄性射精球, *Drosophila grimshawi* 的鼻内裂片, 家蝇和舌蝇的表皮组织。卵巢在刺激家蝇 *Musca domestica* L. 性信息素的合成中起着重要作用 (Blomquist *et al.*, 1987)。其他几项研究还表明, 在昆虫卵巢中可能产生性信息素或其他化学信息素, 例如, 酪蝇 *Piophilidae casei* (张婷婷等, 2010) 和家蝇 (Jiang *et al.*, 2002; 2003)。本实验的结果显示斑翅果蝇卵巢为性信息素的产生部位。此结果基本符合双翅目性信息素产生位置的预期, 但与黑腹果蝇属性信息素产生位置大不相同。

视觉和嗅觉都与果蝇物种的求偶行为有关 (Spieth, 1974; Agrawal *et al.*, 2014; Jezovit, *et al.*, 2017)。视觉因素在不同果蝇种类求偶行为中的作用各不相同; 然而, 视觉和嗅觉之间需要权衡资源分配 (Keesey *et al.*, 2019)。例如, 黑腹果蝇的求偶大多是在没有光的情况下进行的, 它们的交配是不依赖光的 (Hardeland, 1972; Jallon, 1984), 然而最近的一项研究表明, 视觉因素在决定是否接近物体时起主导作用, 而化学因素决定了雄虫追求目标的时间 (Agrawal *et al.*, 2014)。对于斑翅果蝇, 雄虫在其翅膀的顶端有一个明显的黑点, 而雌虫则没有黑点, 并且它们的交配活动在光周期开始时更频繁地发生 (Revadi *et al.*, 2015), 而从没有出现过在黑暗环境下发生 (Fuyama, 1979)。考虑到作为性信息素的 cVA 的丧失, 有人提出斑翅果蝇应该在性别辨别中依靠视觉线索 (特别是显眼的翅膀斑点) 而不是嗅觉线索 (Dekker *et al.*, 2015)。斑翅果蝇还拥有一对扩大的复眼, 比黑腹果蝇 *D. melanogaster* 大 2.5 倍, 这表明在视觉和嗅觉之间要权衡资源分配 (Keesey *et al.*, 2019)。但是, Fuyama (1979) 发现, 翅膀上没有斑点的雄虫 (被手术切除) 普遍会被雌性接受交配, 这表明对侧翼斑的视觉刺激是不太可能参与性隔离机制。本实验的研究结果表明: 视觉因素和性信息素联合作用才能显著增强斑翅果蝇雄虫

的求偶行为。但视觉和信息素在斑翅果蝇求偶和交配行为中的相互作用和潜在机制尚不十分清楚, 应进一步研究。

尽管在斑翅果蝇的化学生态学和将其用于开发以食物为基础的诱饵和诱捕技术以用于该领域方面已取得了重大进展, 但我们对斑翅果蝇的两性交流和性行为的理解仍然是有限的(伍苏然等, 2007; Revadi *et al.*, 2015; Cloonan *et al.*, 2018; Keeseey *et al.*, 2019; Klick *et al.*, 2019)。我们的研究提供了有关斑翅果蝇求偶行为的特定日龄和昼夜性质, 从未交配雌虫的卵巢中提取的粗提物对雄虫的吸引力以及视觉和气味在雄虫求偶行为中的作用的进一步信息。我们的发现有助于进一步研究识别性信息素和其他有关斑翅果蝇性行为的线索, 这些线索可用于开发特定物种的监测工具和病虫害综合治理的新方法。

参考文献 (References)

- Agrawal S, Safarik S, Dickinson M, 2014. The relative roles of vision and chemosensation in mate recognition of *Drosophila melanogaster*. *Journal of Experimental Biology*, 217(15): 2796–805.
- Antony C, Jallon JM, 1982. The chemical basis for sex recognition in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology*, 28(10): 873–880.
- Bellas TE, Fletcher BS, 1979. Identification of the major components in the secretion from the rectal pheromone glands of the queensland fruit flies *Dacus tryoni* and *Dacus nehumeralis* (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Chemical Ecology*, 5(5): 795–803.
- Blomquist GJ, Dillwith JW, Adams TS, 1987. 7-Biosynthesis and endocrine regulation of sex pheromone production in Diptera // Prestwich GD, Blomquist GJ(eds.). Pheromone Biochemistry. San Diego, CA: Academic Press. 217–250.
- Cloonan KR, Abraham J, Angeli S, Syed Z, Rodriguez-Saona C, 2018. Advances in the chemical ecology of the spotted wing drosophila (*Drosophila suzukii*) and its applications. *Journal of Chemical Ecology*, 44(10): 922–939.
- Cobb M, Jallon JM, 1990. Pheromones, mate recognition and courtship stimulation in the *Drosophila melanogaster* species sub-group. *Animal Behavior*, 39(6): 1058–1067.
- Cui X, Li ZP, Qi JW, Hu CH, Dong ZS, Tang GW, 2016. Timing of emergence and mating of *Piophilidae casei* (Diptera: Piophilidae). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 53(4): 817–823. [崔霄, 李志鹏, 戚敬威, 胡纯华, 董智森, 唐国文, 2016. 酪蝇的羽化节律和交配行为. 应用昆虫学报, 53(4): 817–823.]
- Dekker T, Revadi S, Mansourian S, Ramasamy S, Lebreton S, Becher PG, Angeli S, Rota-Stabeli O, Anfora G, 2015. Loss of *Drosophila* pheromone reverses its role in sexual communication in *Drosophila suzukii*. *Proceeding of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282 (1804): 20143018.
- Dillwith JW, Adams TS, Blomquist GJ, 1983. Correlation of housefly sex pheromone production with ovarian development. *Journal of Insect Physiology*, 29(5): 377–386.
- Droney DC, Hock MB, 1998. Male sexual signals and female choice in *Drosophila grimshawi* (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Insect Behavior*, 11(1): 59–71.
- Dweck HKM, Ebrahim SAM, Thoma M, Mohamed AAM, Hansson BS, 2015. Pheromones mediating copulation and attraction in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(21): 2829–2835.
- Ewing AW, 1983. Functional aspects of *Drosophila* courtship. *Biological reviews*, 58(2): 275–292.
- Ferveur JM, 1996. The pheromonal role of cuticular hydrocarbons in *Drosophila melanogaster*. *Bioessays*, 19(4): 353–358.
- Fuyama Y, 1979. A visual stimulus in the courtship of *Drosophila suzukii*. *Experientia*, 35(10): 1327–1328.
- Goodhua RE, Bolda M, Farnsworth D, Williams JC, Zalom FG, 2011. Spotted wing drosophila infestation of California strawberries and raspberries: Economic analysis of potential revenue losses and control costs. *Pest Management Science*, 67(11): 1396–1402.
- Hardeland R, 1972. Species differences in the diurnal rhythmicity of courtship behaviour within the *Melanogaster* group of the genus *Drosophila*. *Animal Behaviour*, 20(1): 170–174.
- Jallon JM, Hotta Y, 1979. Genetic and behavioral studies of female sex appeal in *Drosophila*. *Behavior Genetics*, 8(4): 257–275.
- Jallon JM, 1984. A few chemical words exchanged by *Drosophila* during courtship and mating. *Behavior Genetics*, 14(5): 441–478.
- Jezovit JA, Levine JD, Schneider J, 2017. Phylogeny, environment and sexual communication across the *Drosophila* genus. *Journal of Experimental Biology*, 220(1): 42–52.
- Jiang Y, Lei CL, Niu CY, Fang YL, Xiao C, Zhang ZN, 2002. Semiochemicals from ovaries of gravid females attract ovipositing female houseflies, *Musca domestica*. *Journal of Insect Physiology*, 48(10): 945–950.
- Jiang Y, Lei CL, Niu CY, Fang YL, Xiao C, Zhang ZN, 2003. Semiochemicals from mature ovaries of gravid females attracting

- the oviposition of female *Musca domestica*. *Entomological Knowledge*, 40(2): 150–153. [姜勇, 雷朝亮, 牛长缨, 方宇凌, 肖春, 张钟宁, 2003. 家蝇卵巢中的信息化学物质引诱雌蝇产卵的研究. *昆虫知识*, 40(2): 150–153.]
- Keesey IW, Grabe V, Gruber L, Koerte S, Obiero GF, Bolton G, Khallaf MA, Kunert G, Lavista-Llanos S, Valenzano DR, Rybak J, Barrett BA, Knaden M, Hansson BS, 2019. Inverse resource allocation between vision and olfaction across the genus *Drosophila*. *Nature Communications*, 10(1): 1162.
- Klick J, Rodriguez-Saona CR, Cumplido JH, Holdcraft RJ, Urrutia WH, Silva RO, Borges R, Mafra-Neto A, Seagraves MP, 2019. Testing a novel attract-and-kill strategy for *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) management. *Journal of Insect Science*, 19(1): 1–6.
- Landolt PJ, Heath RR, 1990. Sexual role reversal in mate-finding strategies of the cabbage looper moth. *Science*, 249(4971): 1026–1028.
- Landolt PJ, Reed HC, Heath RR, 1992. Attraction of female papaya fruit fly (Diptera: Tephritidae) to male pheromone and host fruit. *Environmental Entomology*, 21(5): 1154–1159.
- Laturney M, Billeter JC, 2016. *Drosophila melanogaster* females restore their attractiveness after mating by removing male antiaphrodisiac pheromones. *Nature Communications*, 7: 12322.
- Li Y, Qi JW, Xiong Y, Qian XX, Su FW, Xiao C, Dong WX, 2019. The effectiveness of using ovarian extract from the female cheese skipper, *Piophilidae casei*, as a lure to trap males of this species. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 56(2): 327–332. [李颖, 戚敬敬, 熊焰, 钱晓香, 苏发武, 肖春, 董文霞, 2019. 酪蝇雌虫卵巢提取物对其雄虫的引诱效果. *应用昆虫学报*, 56(2): 327–332.]
- Liu Y, Xie D S, Zhang F, Zhang JP, Hu CH, Zhang JM, Xiong Y, Liu B, Dong WX, 2017a. Oviposition preferences and reproductive success of *Drosophila suzukii* on 4 non-host fruits. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 54(1): 107–112. [刘燕, 谢东生, 张峰, 张金平, 胡纯华, 张建梅, 熊焰, 刘冰, 董文霞, 2017a. 斑翅果蝇对四种非寄主果实的产卵选择适应性. *应用昆虫学报*, 54(1): 107–112.]
- Liu Y, Xie DS, Hu CH, Chen L, Xiao C, 2017b. The orientation behavior of *Drosophila suzukii* is influenced by the fruits and the volatiles of Chinese bayberries at different stages of ripeness. *Chinese journal of applied entomology*, 54(5):716–723. [刘燕, 谢冬生, 胡纯华, 陈立, 肖春, 2017b. 杨梅果实成熟度及挥发物对斑翅果蝇定向行为的影响. *应用昆虫学报*, 54(5): 716–723.]
- Mazzoni V, Anfora G, Virant-Doberlet M, 2013. Substrate vibrations during courtship in three *Drosophila* species. *PLoS ONE*, 8(11), e80708.
- Revadi S, Lebreton S, Witzgall P, Anfora G, Dekker T, Becher PG, 2015. Sexual behavior of *Drosophila suzukii*. *Insects*, 6 (1): 183–196.
- Roelofs WL, Carde RT, 1977. Responses of lepidoptera to synthetic sex pheromone chemicals and their analogues. *Annual Review of Entomology*, 22(1): 377–405.
- Sakai T, Ishida N, 2001. Circadian rhythms of female mating activity governed by clock genes in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98 (16): 9221–9225.
- Snellings Y, Herrera B, Wildemann B, Meelen M, Zwarts L, Wenseleers T, Callaerts P, 2018. The role of cuticular hydrocarbons in mate recognition in *Drosophila suzukii*. *Scientific Reports*, 8(1): 1–11.
- Spieth HT, 1974. Courtship behavior in *Drosophila*. *Annual Review Entomology*, 19(1): 385–405.
- Wicker-Thomas C, 2007. Pheromonal communication involved in courtship behavior in *Diptera*. *Journal of Insect Physiology*, 53(11): 1089–1100.
- Wu SR, Tai HK, Li ZY, Wang X, Yang SS, Sun W, Xiao C, 2007. Field evaluation of different trapping methods of cherry fruit fly, *Drosophila suzukii*. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Sciences Edition)*, 22(5): 776–778. [伍苏然, 太红坤, 李正跃, 王旭, 杨仕生, 孙文, 肖春, 2007. 樱桃果蝇田间诱捕方法比较. *云南农业大学学报 (自然科学版)*, 22 (5): 776–778.]
- Zhang TT, Dou TS, Xu ZQ, Li SH, Wang K, Xiao C, 2010. Semiochemicals from ovary of cheese skipper *Piophilidae casei* attract male cheese skipper. *Agrochemicals*, 49(9): 671–673. [张婷婷, 窦体寿, 徐志强, 李思函, 王凯, 肖春, 2010. 卵巢对酪蝇雄虫的引诱效果. *农药*, 49(9): 671–673.]
- Zhang XG, Wei CM, Miao J, Zhang XJ, Wei B, Dong WX, Xiao C, 2019. Chemical compounds from female and male rectal pheromone glands of the guava fruit fly, *Bactrocera correcta*. *Insects*, 10(3): 78.