



枸杞奈实蝇幼期各虫态的形态发育特征

尹祝华 陈 君 徐常青 刘 赛 郭 昆 乔海莉*

(中国医学科学院北京协和医学院, 药用植物研究所, 北京 100193)

摘要:为探明枸杞奈实蝇 *Neoceratitis asiatica* 幼期各虫态的形态发育特性,采用田间取样和室内饲养相结合的方法对其卵、幼虫、蛹的生长发育过程、形态变化及识别特征进行系统观察,通过测量口钩和头咽骨的长度来划分幼虫龄期,解剖并观察不同发育时期蛹及蛹壳颜色,利用图像分析系统提取并分析蛹壳颜色的RGB值。结果表明:枸杞奈实蝇卵的发育可分为初期卵、口钩显现期卵和破壳期卵3个阶段。幼虫分为3个龄期,均具有1对能够自由收缩的骨化口钩及头咽骨,其形态和大小在各龄幼虫之间存在明显差异。预蛹期是从幼虫到蛹蜕变的过渡时期,蛹的形态发育呈规律性变化,可分为隐头蛹期和显头蛹期2个阶段,显头蛹期又可细分为显头蛹初期、黄色眼期、红色眼期、鬃毛蛹期及预成虫期5个阶段。蛹壳颜色随蛹的发育呈不均衡加深趋势,在预蛹期、鬃毛蛹期和预成虫期变化尤为明显。根据蛹壳颜色的RGB值,可制作对应不同发育阶段的蛹壳颜色标准比色板,用于枸杞奈实蝇的发育生物学及防治技术研究。

关键词: 枸杞奈实蝇; 幼期; 形态特征; 幼虫龄期; 蛹壳颜色

Morphological and developmental characteristics of preimaginal stages of lycium fruit fly *Neoceratitis asiatica*

Yin Zhuhua Chen Jun Xu Changqing Liu Sai Guo Kun Qiao Haili*

(Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China)

Abstract: In order to clarify the morphological and developmental characteristics of preimaginal stages of lycium fruit fly *Neoceratitis asiatica*, the growth and development, morphologic change and recognition characteristics of eggs, larvae and pupae were observed and described systematically by field sampling and laboratory rearing. The larval instars were divided by measuring the lengths of the mouth hooks and the cephalopharyngeal skeletons. The morphology of pupae at different developmental stages was observed, and the corresponding color of puparium were analyzed by digital image processing system. Then the pupae at different developmental stages were dissected, and the puparia were removed. The external morphological characteristics of pupae were observed and photographed under the stereomicroscope. The results showed that the developmental process of the eggs could be divided into the initial stage of egg, the egg stage of hook presence and the egg stage of shell split. The larva had a pair of ossified mouth hooks and cephalopharyngeal skeletons, which could contract freely. There were significant differences in the shape and size of the mouth hooks and cephalopharyngeal skeletons among different instar larvae. The larvae were divided into three instars based on the length of mouth hooks and cephalopharyngeal skeletons. Prepupal stage was a transition period from larva to pupa of *N. asiatica*. The pupal morphogenesis could be divided into cryptocephalic pupal stage and phanerocephalic pupal stage, and the phanerocephalic pupa stage was further divided into early phanerocephalic stage, yellow-

基金项目: 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(2016-I2M-3-017)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: qhl193314@163.com

收稿日期: 2021-03-08

eyed stage, red-eyed stage, bristled stage and pharate adult stage. The puparium color of *N. asiatica* deepened unevenly with the developmental time, and obvious changes were observed in the prepupal stage at the early stage of pupation, the bristled stage and the pharate adult stage near emergence. Based on the RGB value of the puparium color at different developmental stages, the standard colorimetry plate was prepared corresponding to the puparium color at different developmental stages, which can be used for the research of the developmental biology and control techniques of *N. asiatica* in the future.

Key words: *Neoceratitis asiatica*; preimaginal stage; morphological characteristic; larval instar; puparium color

枸杞奈实蝇 *Neoceratitis asiatica* 又名亚洲新腊实蝇、枸杞实蝇,属于双翅目环裂亚目实蝇科腊实蝇族奈实蝇属 *Neoceratitis*, 属的中文名也有称新腊实蝇属(梁广勤, 2011), 是为害宁夏枸杞 *Lycium barbarum* (简称枸杞) 的重要成灾性害虫。该虫以成虫产卵于枸杞果实内, 幼虫孵化后将果肉蛀食成纵横交错的虫道, 直至留下一层表皮, 蛀空的果实内堆满虫粪, 无法作为商品出售, 失去其经济价值, 因其隐蔽为害, 防治难度极大, 虫果率即为产量损失率(吴福祯等, 1963)。近年来, 枸杞奈实蝇的发生区域和为害面积逐年增加, 已蔓延至宁夏、青海和新疆等省区枸杞主产区, 每年造成的虫果率严重时可达 80%, 年产量损失率可达 22%~55%, 重者高达 80%(吴福祯等, 1963; 吴福祯和孟庆祥, 1963; 刘晓丽等, 2020), 给枸杞种植企业和农户造成了极大的经济损失。

国内外关于枸杞奈实蝇的研究资料较为缺乏, 迄今为止尚未见其生物学特性的完整报道, 而各虫态的发育形态学研究是明确该虫生物学和生态学特性的重要基础。目前, 针对枸杞奈实蝇的形态特征和发育特征描述多集中于成虫(吴福祯等, 1963), 缺乏对卵、幼虫和蛹的全面系统记述。由于枸杞奈实蝇卵和幼虫均隐匿于枸杞果实内部, 幼虫老熟后脱离果实, 入土化蛹, 很难观察到其形态变化和生长发育过程, 因此, 准确掌握枸杞奈实蝇幼期各虫态的形态特征和发育变化, 对该虫防治适期、防治虫态的确定及预测预报具有重要的指导意义。

本研究通过田间取样结合室内饲养、显微观察、拍照、解剖、测量和图像处理等方法, 全面系统地研究枸杞奈实蝇卵、幼虫和蛹的生长发育过程、颜色变化和识别特征, 同时根据口钩和头咽骨的形态和长度等指标对幼虫的龄期进行划分, 以期对枸杞奈实蝇发育生物学及防治技术的研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试虫源: 枸杞奈实蝇虫果于 2020 年 6 月采自

宁夏回族自治区中宁县枸杞种植基地, 枸杞品种为宁杞 1 号, 树龄为 10 年。同时采集带有健康青果的新鲜枸杞枝条供试。

试剂和仪器: 酵母浸粉, 英国 Oxoid 公司; 其余试剂均为国产分析纯。PRX-450 D 人工气候培养箱, 宁波赛福实验仪器有限公司; LEICA M205 C 体视显微镜, 德国 Leica 公司。

1.2 方法

1.2.1 枸杞奈实蝇卵的形态特征及孵化过程观察

为观察和记录枸杞奈实蝇卵的形态变化和孵化过程, 将采集的枸杞奈实蝇虫果带回室内置于直径 30 cm、高 9 cm、孔径 0.6 mm 的网筛中, 放于铺有 5 cm 厚细砂土的托盘上, 待老熟幼虫自然脱离虫果并入土化蛹后, 移除网筛及虫果。待成虫羽化后, 雌雄配对后饲养于大小为 30 cm×30 cm×30 cm 的网笼内, 饲喂质量比为 1:3 的酵母浸粉与蔗糖供其补充营养。将带有健康青果的新鲜枸杞枝条置于网笼内供成虫产卵, 待雌成虫产卵后, 立即解剖带卵果实, 挑出卵粒置于垫有湿润玻璃纤维滤纸的直径 9 cm 培养皿内, 于温度 (26±2)℃、相对湿度 (40±10)%、光周期 14 L:10 D 的人工气候培养箱内饲养。在体视显微镜下观察并拍照记录卵的孵化过程。从卵发育当日开始, 每隔 12 h 观察 1 次, 待卵内出现骨化结构后, 每隔 2 h 观察 1 次, 共计观察 50 粒卵。卵的形态结构名称和发育阶段定义参考曹利军等(2014)报道。

1.2.2 枸杞奈实蝇幼虫的形态特征观察

为观察和描述枸杞奈实蝇幼虫的形态特征, 并准确划分其龄期, 将采集的枸杞奈实蝇虫果带回室内进行解剖, 取出幼虫浸在 70% 酒精中保存, 于体视显微镜下观察其形态并测量体长。用昆虫针小心刺穿幼虫腹部, 转移至溶有 10% 氢氧化钾的 70% 酒精溶液中, 根据虫体大小浸泡 4~12 h 不等, 待幼虫体内的脂肪充分消化和降解后, 取出虫体挤压出残余脂肪。于体视显微镜下观察并测量幼虫口钩和头咽骨的长度(李子玲等, 2012; 周小妹等, 2017)。采用 SPSS 24.0 软件对枸杞奈实蝇幼虫口钩和头咽骨

的长度进行频次分布分析,初步划分幼虫龄期,并确定每组幼虫口钩和头咽骨的长度范围。通过计算Brooks指数进而计算得到Crosby指数,以此判断龄期划分的合理性。当Crosby指数大于0.1时表明龄期划分指标不合理(Loerch & Cameron, 1983; 曹利军等, 2014)。Brooks指数= x_n/x_{n-1} , x_n 和 x_{n-1} 分别表示第 n 龄和 $n-1$ 龄幼虫所测指标的平均值; Crosby指数= $(b_n-b_{n-1})/b_n$, b_n 和 b_{n-1} 分别表示第 n 和 $n-1$ 个Brooks指数。幼虫的形态结构名称参考陈禄仕(2013)报道。

1.2.3 枸杞奈实蝇蛹的解剖及形态特征观察

蛹的解剖及形态观察:为明确不同发育时期枸杞奈实蝇蛹的形态特征,采用1.2.1方法获得老熟幼虫,取180头置于3个直径8 cm、高15 cm的玻璃缸中,每缸60头。缸底铺10 cm厚砂土(土壤湿度10%),以老熟幼虫全部入土化蛹当天为0 d,每24 h分别从玻璃缸中取出3头蛹,于体视显微镜下解剖、观察并记录不同发育时期蛹的形态特征。蛹的形态结构名称和发育阶段定义参考Bainbridge & Bownes (1981)、陈斌等(2012)和张金钰等(2015)报道。

蛹壳颜色变化的观察与分析:为观察枸杞奈实蝇蛹壳的颜色变化并获得标准色板,取老熟幼虫置于盛有2/3砂土的直径9 cm灭菌培养皿中,观察并记录其化蛹过程和蛹壳颜色变化。自第1头幼虫开始化蛹起,每10 min观察1次,记录虫体变化、蛹形

成过程以及化蛹时长。蛹壳形成后当天(0 d),每6 h观察记录1次蛹壳颜色的变化(色温5 600 K)。从化蛹第1天开始,每24 h观察并记录蛹壳的颜色变化情况。设置6个培养皿,每个培养皿内放置10头老熟幼虫。将图片导入Photoshop图像分析系统,利用颜色取样器1次读取5×5像素区域的平均值,在每个蛹壳上随机选取20个像素区,读取颜色数据,记录颜色板RGB值,取平均数作为蛹壳颜色的标准RGB值(王贺等, 2017; 2020)。

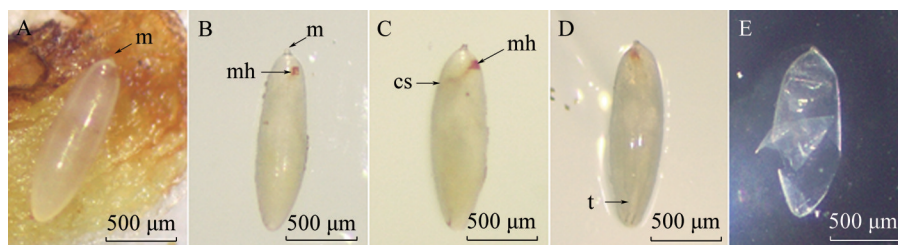
1.3 数据分析

采用Excel 2019对枸杞奈实蝇幼虫口钩、头咽骨的长度和蛹壳颜色的RGB值等数据进行整理分析。

2 结果与分析

2.1 枸杞奈实蝇卵的形态及其孵化过程

枸杞奈实蝇卵长为0.57~0.60 mm,宽为0.18~0.19 mm,体乳白色,长椭圆形,一端稍尖,一端钝圆,卵孔端有乳状突起。初期卵,半透明,光滑,卵壳薄而有弹性(图1-A);口钩显现期卵,卵孔端可见1对红棕色口钩(图1-B);破壳期卵,半透明状,口钩呈红褐色,可见整个头咽骨,口器上下活动(图1-C),体内隐约可见幼虫气管贯穿虫体(图1-D);孵化时,幼虫在卵壳内不断蠕动,产生的压力使得卵壳不断膨胀、破裂,幼虫从破裂处钻出,留下卵壳(图1-E)。卵期3~4 d。



A: 初期卵; B: 口钩显现期卵; C~D: 破壳期卵; E: 卵壳; m: 卵孔; mh: 口钩; cs: 头咽骨; t: 气管。A: Initial stage of egg; B: the egg stage of hook presence; C~D: the egg stage of shell split; E: egg shell; m: micropyle; mh: mouth hooks; cs: cephalopharyngeal skeleton; t: trachea.

图1 枸杞奈实蝇卵期的不同发育形态

Fig. 1 Different developmental morphologies at the egg stage of *Neoceratitis asiatica*

2.2 枸杞奈实蝇幼虫龄期的划分及其形态特征

2.2.1 枸杞奈实蝇幼虫龄期的划分

枸杞奈实蝇幼虫具有1对能够自由收缩的骨化口钩及口钩后方的头咽骨,其形态和大小在各龄幼虫之间存在明显的区别(图2)。因此,可以根据幼虫口钩及头咽骨的长度来划分枸杞奈实蝇幼虫的龄期。

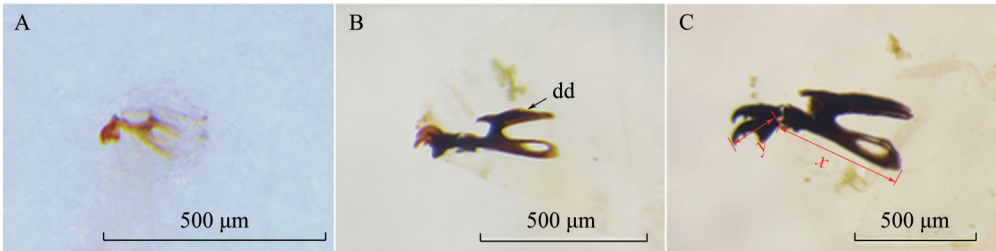
以枸杞奈实蝇幼虫头咽骨长度为横坐标、口钩长度为纵坐标绘制散点图,结果显示枸杞奈实蝇幼

虫口钩和头咽骨的长度组合值呈现3个明显的集中分布区,同一龄期幼虫的值均集中在同一个分布区,并与其他龄期相隔离(图3),据此推测枸杞奈实蝇幼虫具有3个龄期。

枸杞奈实蝇幼虫口钩和头咽骨的长度在不同龄期幼虫之间存在明显差异(表1)。1龄、2龄和3龄幼虫的口钩长度平均分别为0.061、0.137和0.218 mm,头咽骨长度平均分别为0.156、0.309和0.537 mm。

不同龄期幼虫口钩和头咽骨的长度范围相互隔离无重叠,同龄个体间的差异较小。无论是口钩还是头咽骨,其Crosby指数均小于0.1(表1),表明测量数

据均覆盖了幼虫的所有龄期,将枸杞奈实蝇幼虫划分为3个龄期是合理的。



A~C: 1~3龄; dd: 背堤; x: 头咽骨长度; y: 口钩长度。A~C: 1st~3rd instar; dd: dorsal dam; x: the length of cephalopharyngeal skeleton; y: the length of mouth hooks.

图2 枸杞奈实蝇不同龄期幼虫口钩和头咽骨的形态特征

Fig. 2 Morphological characteristics of mouth hooks and cephalopharyngeal skeletons in different instars of *Neoceratitis asiatica* larvae

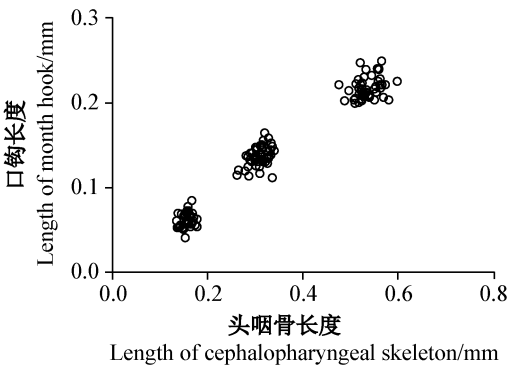


图3 枸杞奈实蝇幼虫口钩和头咽骨长度散点图

Fig. 3 Scatter plot of the mouth hook and cephalopharyngeal skeleton lengths of *Neoceratitis asiatica* larvae

2.2.2 枸杞奈实蝇幼虫的形态特征

枸杞奈实蝇幼虫为无头无足型,共11个体节。不同龄期幼虫的形态特征存在一定差异(图4)。

1龄幼虫:初孵幼虫体长1.009~1.179 mm,体乳白色、半透明;头部钝圆,腹部末端尖细,体表光滑(图4-A);口钩半圆形,红棕色,具2对齿,包括1对端齿和1对端前齿,端前齿较小;头咽骨深灰色,背堤不明显(图2-A);前气门尚未发育,不可见;后气门在初孵幼虫上难以观察到。

2龄幼虫:体长2.884~3.276 mm,近圆柱形,体淡黄色;头部和腹部末端略窄于体中部,体节增大,分节明显(图4-B);口钩呈月牙形,具2对齿,端前齿至端齿部位为红褐色,口钩后半部为黑褐色;头咽骨为黑褐色,背堤长而尖锐,每个头咽骨腹角具1个椭圆形孔(图2-B);前气门外缘具9~12个乳状突,呈中央凹陷的漏斗状(图4-D);后气门1对,气门板肾形,每个气门板具有3个气门裂,气门裂椭圆形,呈红棕色(图4-E)。

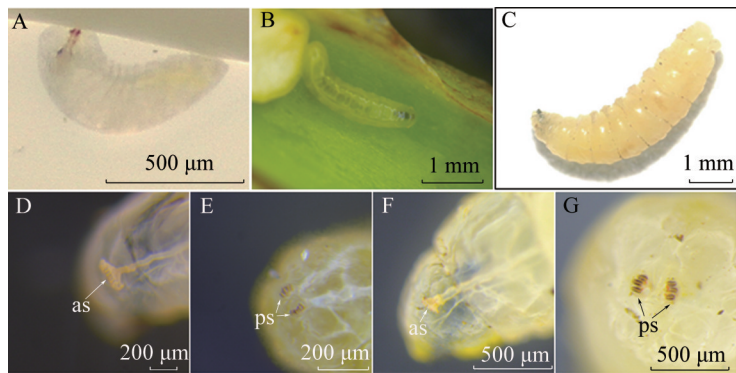
表1 不同龄期枸杞奈实蝇幼虫口钩和头咽骨长度及统计分析结果

Table 1 Statistics of the lengths of mouth hooks and cephalopharyngeal skeletons in different larval instars of *Neoceratitis asiatica*

幼虫龄期 Larval instar	样本量 No. of samples	口钩长度 Length of mouth hook				头咽骨长度 Length of cephalopharyngeal skeleton			
		平均数±标准误 Mean±SE/mm	范围 Range/mm	Brooks指数 Brooks' ratio	Crosby指数 Crosby' ratio	平均数±标准误 Mean±SE/mm	范围 Range/mm	Brooks指数 Brooks' ratio	Crosby指数 Crosby' ratio
1龄 1st instar	50	0.061±0.008	0.041~0.085			0.156±0.011	0.135~0.178		
2龄 2nd instar	50	0.137±0.012	0.112~0.165	2.246		0.309±0.019	0.262~0.340	1.980	
3龄 3rd instar	50	0.218±0.013	0.200~0.250	1.591	-0.292	0.537±0.025	0.476~0.599	1.737	-0.123

3龄幼虫:老熟幼虫体长7.384~7.648 mm,圆锥形,体米黄色;头部尖细,腹部末端钝圆;体节膨大,分节明显可辨认(图4-C);口钩呈镰刀形,具2对齿,

口钩和头咽骨均为黑色,头咽骨背堤短细(图2-C);前气门外缘具9~12个乳状突,呈平扇形(图4-F);后气门具气门裂,呈长椭圆形,为红褐色(图4-G)。



A~C: 1~3龄幼虫; D~E: 2龄幼虫前、后气门; F~G: 3龄幼虫前、后气门; as: 前气门; ps: 后气门。A~C: 1st~3rd instar larvae; D~E: anterior and posterior spiracles of 2nd instar larvae; F~G: anterior and posterior spiracles of 3rd instar larvae; as: anterior spiracle; ps: posterior spiracle.

图4 枸杞奈实蝇各龄幼虫的形态特征

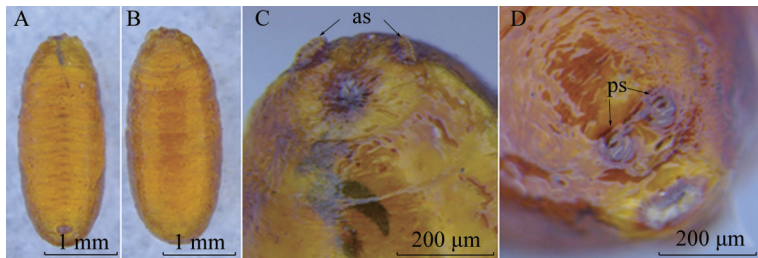
Fig. 4 Morphological characteristics of different instars of *Neoceratitis asiatica* larvae

2.3 枸杞奈实蝇蛹的形态特征及其发育过程

2.3.1 枸杞奈实蝇蛹的形态特征

枸杞奈实蝇蛹为围蛹,椭圆形,头部稍尖,尾部钝圆(图5-A~B);体长4.25 mm,体宽1.79 mm,体重4.89 mg;蛹的前气门由幼虫的前气门骨化而成,位

于蛹的头部端两侧,呈平扇形,具9~12个乳状突,排成一列(图5-C);后气门位于蛹的腹部末节腹面,1对气门板上均具3条气裂,中间1条气裂较另2条气裂更靠虫体外侧(图5-D)。蛹期约15 d。



A: 蛹腹面观; B: 蛹背面对观; C: 蛹头部端; D: 蛹腹部末端; as: 前气门; ps: 后气门。A: Ventral view of pupa; B: dorsal view of pupa; C: the head end of pupa; D: the abdominal end of pupa; as: anterior spiracle; ps: posterior spiracle.

图5 枸杞奈实蝇蛹及其前气门和后气门的形态特征

Fig. 5 Morphological characteristics of pupae and their anterior and posterior spiracles of *Neoceratitis asiatica* pupae

2.3.2 枸杞奈实蝇蛹的发育过程及其形态变化

枸杞奈实蝇老熟幼虫停止取食后开始化蛹,经过预蛹、蛹的阶段才能羽化,在这些过程中,内部器官和外部形态不断变化,是虫体变化最大的时期,包括老熟幼虫期、预蛹期和蛹期,蛹期分为隐头蛹期和显头蛹期,其中显头蛹期又分为显头蛹初期、黄色眼期、红色眼期、鬃毛蛹期和预成虫期,共经历了8个不同的发育阶段。

老熟幼虫期:枸杞奈实蝇幼虫在枸杞果实内发育至老熟后,停止取食,在果实的近果柄处钻出,掉落至地面,开始爬行。有时将口钩钩在身体尾部,使虫体弯曲成弓形,借助虫体卷曲的力量弹跳找到合适场所后,即开始入土化蛹(图6-A)。化蛹时,老熟幼虫的虫体逐渐收缩变短(图6-B),化蛹后体长固

定在原来的60%左右(图6-C)。消化道内的残余物从肛门处排出体外,节间距变短并出现明显的凹陷。当老熟幼虫形成蛹壳前,如受外力干扰,则会重返幼虫状态,继续爬行寻找合适场所重新化蛹。从虫体缩短开始到蛹壳形成,整个过程持续约40 min。

预蛹期(0~1 d):枸杞奈实蝇虫体节间逐渐变得光滑,蛹壳形成,透过蛹壳可见蛹内口钩不断蠕动(图6-D)。这个时期,枸杞奈实蝇显然不是幼虫,但也没有完全变成蛹。蛹壳形成后,其颜色逐渐由最初的米黄色(图6-D)变为红褐色(图6-E)。

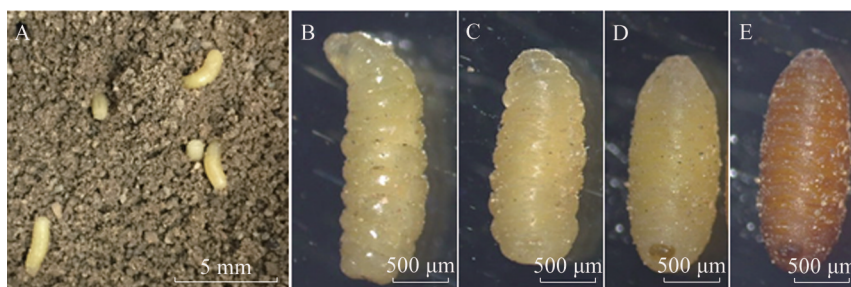
隐头蛹期(2~3 d):枸杞奈实蝇从该时期开始才真正意义上进入蛹期。进入隐头蛹期后,幼虫口钩不再活动。移除蛹壳后,可见蛹体无头,仍保持幼虫形态,幼虫口器未排出。头、胸、腹未分化(图7-A、

I)。解剖裸蛹后,可见黄绿色马氏管。

显头蛹初期(3~11 d):枸杞奈实蝇的裸蛹与蛹壳易分离,头部外翻将口钩和头咽骨排出,口钩和头咽骨紧贴腹面蛹壳内壁上,从蛹壳外可见幼虫口器。蛹体的头、胸、腹开始分化,可见呈双小球状的原头。随着蛹的发育,头、胸、腹的界限逐渐明显,复眼轮廓形成,腹面可见胸腹桥和紧贴蛹体的足与翅,

足延伸至腹部末端。从蛹体背面可见黄色体移动至2个绿色的马氏管之间(图7-B、J)。

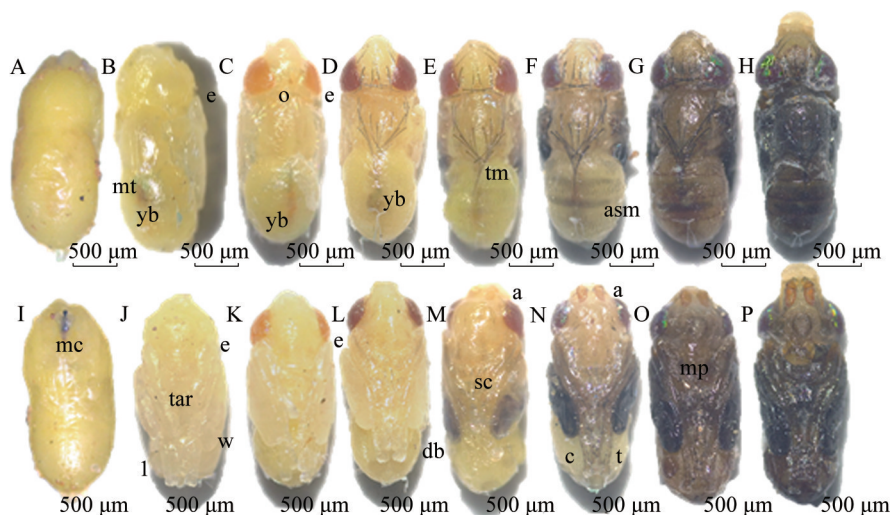
黄色眼期(11~12 d):枸杞奈实蝇的裸蛹为浅黄色,无鬃。复眼由边缘处开始着色,最初为浅黄色,随后整个复眼变为浅黄色,再变成橙色。复眼间可见呈三角状排列的3个单眼,呈红色。黄色体向腹部后端移动,从背面可见1条棕色的线(图7-C、K)。



A: 老熟幼虫入土化蛹; B~C: 老熟幼虫期; D~E: 预蛹期。A: Mature larvae pupate in the soil; B~C: mature larval stage; D~E: prepupal stage.

图6 枸杞奈实蝇蛹形成前的形态发育

Fig. 6 Morphological development of *Neoceratitis asiatica* before pupation



A~H: 蛹背面观; I~P: 蛹腹面观; A、I: 隐头蛹期; B、J: 显头蛹初期; C、K: 黄色眼期; D~F、L~N: 红色眼期; G、O: 鬃毛蛹期; H、P: 预成虫期; e: 复眼; mt: 马氏管; yb: 黄色体; o: 单眼; tm: 胸板大刚毛; asm: 腹节边缘; mc: 口钩和头咽骨; tar: 胸腹桥; w: 翅; l: 足; a: 触角; sc: 性梳; db: 变黑的翅末端; t: 跗节刚毛; c: 爪; mp: 口器。A~H: Dorsal view of pupa; I~P: ventral view of pupa; A, I: cryptocephalic stage; B, J: early phanerocephalic stage; C, K: yellow-eyed stage; D~F, L~N: red-eyed stage; G, O: bristled stage; H, P: pharate adult stage; e: compound eye; mt: malpighian tubules; yb: yellow body; o: ocelli; tm: thorax machrochaetae; asm: abdominal segment margins; mc: mouth hooks and cephalopharyngeal skeleton; tar: thorax abdomen ridge; w: wing; l: leg; a: antennae; sc: sex comb; db: the darkened distal blad; t: tarsal bristles; c: claws; mp: mouth parts.

图7 枸杞奈实蝇蛹体发育的形态变化

Fig. 7 Pupal morphogenesis of *Neoceratitis asiatica*

红色眼期(12~13 d):枸杞奈实蝇裸蛹形态变化巨大,复眼颜色逐渐加深,由红色变为深红色,最后变为红褐色。触角原基发育为橙色的触角。眶鬃和单眼鬃开始出现,并逐渐变黑。蛹体颜色由黄色逐渐加深变为暗黄色。胸板大刚毛和性梳逐渐可见,

变黑。腹部背面在各腹节处出现黑色鬃毛,逐渐变黑,随后腹部条纹出现,条纹边缘清晰可辨(图7-D~F)。翅由边缘开始着色变黑,逐渐延伸至整个翅全部变黑;足上跗节清晰可辨,跗节刚毛逐渐变黑,爪骨化(图7-L~N)。

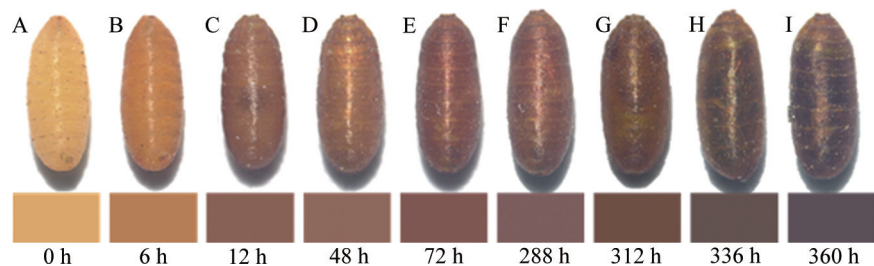
鬃毛蛹期(13~14 d):枸杞奈实蝇蛹的复眼呈深褐色并有绿色金属光泽,小眼清晰可见。蛹体颜色黑黄色,鬃毛变黑、变粗,且浓密。口器分化,触角颜色变深。背板和腹板变黑,腹部背板横向黑色条纹明显,无法透过腹部看到黄色体与马氏管。翅黑色,足和跗节黑色(图7-G、O)。

预成虫期(14~15 d):枸杞奈实蝇蛹的复眼为黑褐色,有金属光泽。体色逐渐变深至黑褐色,口器和触角明显突出。足、翅及鬃毛均贴在虫体上,翅变薄,出现皱褶。剥离蛹壳后可见黄色的额囊伸缩,口器及足微微颤动(图7-H、P)。此时蛹的发育基本结束。

2.3.3 枸杞奈实蝇蛹壳的颜色变化

自然条件下,枸杞奈实蝇蛹壳的颜色在其不同

发育阶段由米黄色渐变为红棕色、褐色,最后呈黑褐色。蛹壳颜色在蛹的发育初期变化较快,尤其是预蛹期颜色差距很大,因此可将其分为预蛹期初期(图8-A)、预蛹期中期(图8-B)和预蛹期后期(图8-C)3个时期。预蛹期之后,蛹壳颜色变化渐缓。隐头蛹期时,蛹壳颜色稍变浅(图8-D)。显头蛹初期蛹壳颜色略微加深,在这个时期内,裸蛹变化较小,在72~288 h之间蛹壳为红棕色,颜色稳定(图8-E)。黄色眼期时,裸蛹开始着色,蛹壳颜色略微加深(图8-F)。红色眼期蛹壳颜色呈褐色,从蛹壳外观察,背面可见1对深色的复眼及由刚毛构成的V型(图8-G)。鬃毛蛹期(图8-H)及预成虫期(图8-I),蛹壳颜色加深至黑褐色。



A: 预蛹期初期; B: 预蛹期中期; C: 预蛹期后期; D: 隐头蛹期; E: 显头蛹初期; F: 黄色眼期; G: 红色眼期; H: 鬃毛蛹期; I: 预成虫期。A: Initial stage of prepupa; B: middle stage of prepupa; C: late stage of prepupa; D: cryptocephalic stage; E: early phanerocephalic stage; F: yellow-eyed stage; G: red-eyed stage; H: bristled stage; I: pharate adult stage.

图8 枸杞奈实蝇蛹壳颜色的变化

Fig. 8 The color change of *Neoceratitis asiatica* puparium

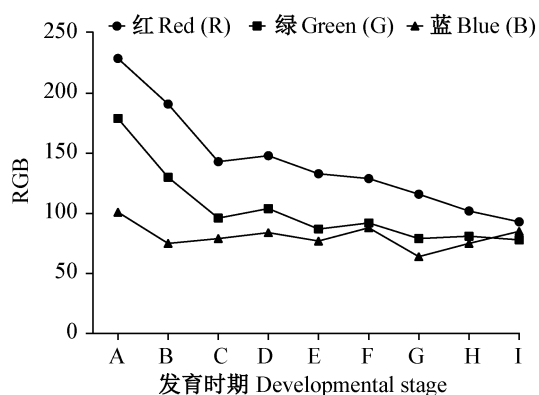
采用图像分析软件得出枸杞奈实蝇蛹壳颜色的RGB值,该值随着蛹的生长发育均呈现由大到小的变化趋势。RGB值在化蛹初期的预蛹期变化较大,其中,R值变化最为明显,预蛹初期R值高达229,随后快速下降至预蛹后期的143,自隐头蛹期开始至临近羽化,R值呈缓慢下降趋势;G值变化趋势与R值相同,均是在预蛹初期最高,为179,在整个预蛹期内G值下降迅速,自隐头蛹期开始G值下降渐缓,均在90上下波动;B值相对于R、G值变化平缓,预蛹初期时为101,自预蛹中期开始B值均在80上下波动,临近羽化时B值略微升高,达85(图9)。

3 讨论

一般来说,划分昆虫幼虫龄期最直接可靠的判断方法是观察幼虫的蜕皮次数,但对于一些钻蛀性昆虫,由于其生活场所隐蔽,难以观察和统计蜕皮次数。因此,许多学者以幼虫某些部位的形态指标作为划分龄期的依据,如幼虫头壳宽度及上颚宽度(彩

万志等,2001;陆俊姣等,2020),这些部位的骨化程度较高,形态相对稳定,其长度和宽度会随着龄期的增长而呈现出一定的几何数量关系(彩万志等,2001),可以反应幼虫的生长状况(胡隴生等,2012)。然而,枸杞奈实蝇幼虫为无头型幼虫,不宜以头壳宽度作为幼虫龄期划分的依据。枸杞奈实蝇隶属双翅目环裂亚目,这类昆虫幼虫一般具有1对能够自由收缩的骨化口钩和头咽骨,在每次蜕皮过程中,新的口钩和头咽骨等结构完全形成后,原先的结构就会随着蜕皮而完整地脱去,幼虫即开始进入下一个龄期。口钩和头咽骨的骨化结构在同一龄期内不会随着幼虫的生长而变化,形态和大小稳定。因此,幼虫的口钩和头咽骨长度可以作为划分环裂亚目昆虫幼虫龄期的可靠依据(周小妹等,2017)。本研究结果表明,枸杞奈实蝇幼虫的口钩和头咽骨形态及大小在不同龄期之间存在明显区别,其长度范围相互隔离且无重叠,同龄个体之间的变异很小,可明确将其幼虫划分为3个龄期。目前,已有南亚果实蝇 *Bac-*

trocera tau (周波, 2005)、瓜实蝇 *B. cucurbitae* (李子玲等, 2012)、枣实蝇 *Carpomya vesuviana* (胡隲生等, 2012) 和橘小实蝇 *B. dorsalis* (周小妹等, 2017) 等双翅目实蝇科幼虫以骨化的口钩或头咽骨结构作为龄期划分的依据, 与本研究结果一致。而幼虫的寄主种类、营养状况和环境因素是否对其口钩和头咽骨的长度造成影响, 还需今后进一步研究。



A: 预蛹期初期; B: 预蛹期中期; C: 预蛹期后期; D: 隐头蛹期; E: 显头蛹初期; F: 黄色眼期; G: 红色眼期; H: 鬃毛蛹期; I: 预成虫期。A: Initial stage of prepupa; B: middle stage of prepupa; C: late stage of prepupa; D: cyptocephalic stage; E: early phanerocephalic stage; F: yellow-eyed stage; G: red-eyed stage; H: bristled stage; I: pharate adult stage.

图9 枸杞奈实蝇蛹壳颜色的RGB值

Fig. 9 RGB values of *Neoceratitis asiatica* puparium color

蛹期是全变态昆虫生活史中由幼虫转变为成虫所经历的一个特有的相对静止虫态, 是幼虫组织器官分解和成虫各器官形成的时期, 也是成虫生殖系统发育成熟的关键时期 (曹利军等, 2014)。本研究中, 枸杞奈实蝇从老熟幼虫停止取食开始化蛹, 经过预蛹期、隐头蛹期、显头蛹期到即将羽化, 共历时约 15 d; 在此阶段蛹的内部器官和外部形态发生了巨大变化。其中, 预蛹期完成了枸杞奈实蝇从幼虫到蛹的蜕变, 是双翅目环裂亚目昆虫在幼虫和蛹期之间一个特殊的过渡时期 (彩万志等, 2001; 陈斌等, 2012)。枸杞奈实蝇蛹期的发育可分为隐头蛹期和显头蛹期 (Fraenkel & Bhaskaran, 1973)。其中, 显头蛹期又细分为显头蛹初期、黄色眼期、红色眼期、鬃毛蛹期和预成虫期。头部外翻是区分蝇类昆虫隐头蛹期和显头蛹期的显著标志 (Nomura & Ishikawa, 2000; 陈斌等, 2012)。枸杞奈实蝇蛹在头外翻过程中, 幼虫的口钩和头咽骨被排出并紧贴在蛹壳内壁, 此后枸杞奈实蝇开始进入了较为漫长的显头蛹期。枸杞奈实蝇头外翻现象在环裂亚目昆虫中较为常见, 如在黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* (Loerch &

Cameron, 1983)、葱蝇 *Delia antiqua* (黎万顺等, 2012) 和橘小实蝇 (景田兴, 2020) 等的研究中均有相关报道。因此, 对环裂亚目的蝇类昆虫而言, 若可透过蛹壳外观察到黑色的骨化结构, 则说明蛹的头外翻已发生, 这一特征可作为蝇类昆虫蛹头外翻完成的识别标志。

本研究结果显示, 在枸杞奈实蝇蛹的不同发育阶段, 蛹壳颜色呈规律性变化, 但每个阶段持续的时间不同; 在蛹发育初期, 尤其是预蛹期, 短时间内蛹壳颜色即可发生较大变化; 从隐头蛹期开始, 枸杞奈实蝇进入真正的蛹期, 虽然蛹体内部结构发生着巨大变化, 但蛹壳颜色变化渐缓, 直至红色眼期; 在枸杞奈实蝇蛹临近羽化的鬃毛蛹期和预成虫期, 蛹壳颜色逐渐加深, 直至变为黑褐色。蛹壳颜色在蛹期各个阶段持续时间不同的现象在铜绿蝇 *Lucilia cuprina* (王贺等, 2017) 和丝光绿蝇 *L. sericata* (王贺等, 2020) 蛹的发育规律研究中也被发现。然而, 蛹的发育和蛹壳颜色的变化与外界环境温度、湿度、光照及土壤条件密切相关, 尤其是环境温度对蛹的发育历期影响最大。在一定温度范围内, 环境温度越低, 蛹的发育历期越长, 蛹壳颜色变化趋势越缓慢 (王贺等, 2020)。因此, 在枸杞奈实蝇蛹的发育生物学研究中, 也要考虑外界环境条件对蛹的发育历期和蛹壳颜色变化的影响, 这样才能准确判断和掌握枸杞奈实蝇的发育规律, 并进一步推测成虫的羽化时期, 从而为枸杞奈实蝇的防治提供基础数据。

RGB 是光的三原色, 自然界中人类肉眼能看到的色彩都可以由这 3 种颜色混合叠加而形成, 它是描述色彩信息最常用的一种模式 (王贺等, 2017)。本研究计算了枸杞奈实蝇各发育阶段蛹壳颜色的 RGB 值, 将其制作成枸杞奈实蝇不同发育阶段蛹壳颜色的标准色卡。在生产实践中可以将枸杞奈实蝇蛹壳的颜色与标准色卡进行比对, 粗略估算枸杞奈实蝇蛹的发育时期, 但要准确推断日龄和历期, 还需结合裸蛹的形态发育特征、生理生化指标和外界环境因子等进行多方面、多角度的综合判断 (郑娜等, 2016; 王贺等, 2017)。

参考文献 (References)

- Bainbridge SP, Bownes M. 1981. Staging the metamorphosis of *Drosophila melanogaster*. *Journal of Embryology and Experimental Morphology*, 66: 57–80
- Cai WZ, Pang XF, Hua BZ, Liang GW, Song DL. 2001. *General entomology*. 1st edition. Beijing: China Agricultural University Press (in Chinese) [彩万志, 庞雄飞, 花保祯, 梁广文, 宋敦伦. 2001. 普通昆虫学. 第1版. 北京: 中国农业大学出版社]

- Cao LJ, Gong YJ, Zhu L, Shi BC, Chen M, Wei SJ. 2014. Morphological study of preimaginal stages of the leafminer *Chromatomyia horticola* (Goureau) (Diptera: Agromyzidae). *Acta Entomologica Sinica*, 57(5): 594–600 (in Chinese) [曹利军, 宫亚军, 朱亮, 石宝才, 陈敏, 魏书军. 2014. 豌豆彩潜蝇幼期各虫态的形态学研究. *昆虫学报*, 57(5): 594–600]
- Chen B, Li WS, He ZB. 2012. Developmental morphology of non-diapausing pupae in onion maggot, *Delia antiqua*. *Journal of Southwest University (Natural Science Edition)*, 34(4): 1–8 (in Chinese) [陈斌, 黎万顺, 何正波. 2012. 葱蝇非滞育蛹期的发育形态学研究. *西南大学学报(自然科学版)*, 34(4): 1–8]
- Chen LS. 2013. *Sarcosaprophagous flies in China*. Guiyang: Guizhou Science and Technology Publishing House, pp. 17 (in Chinese) [陈禄仕. 2013. 中国尸食性蝇类. 贵阳: 贵州科技出版社, pp. 17]
- Fraenkel G, Bhaskaran G. 1973. Pupariation and pupation in cyclorrhaphous flies (Diptera): terminology and interpretation. *Annals of the Entomological Society of America*, 66(2): 418–422
- Hu LS, Qi CJ, Zhu YF, Tian CM, Ren L. 2012. Determination on larva instars of ber fruit fly. *Journal of Xinjiang Agricultural University*, 35(2): 137–139 (in Chinese) [胡陇生, 齐长江, 朱银飞, 田呈明, 任玲. 2012. 枣实蝇幼虫龄期的测定. *新疆农业大学学报*, 35(2): 137–139]
- Jing TX. 2020. Genome-wide analysis of cytochrome P450 and the functions of CYP4G subfamily genes in *Bactrocera dorsalis* (Hendel). Ph. D thesis. Chongqing: Southwest University (in Chinese) [景田兴. 2020. 桔小实蝇细胞色素P450全基因组注释及CYP4G亚家族基因功能研究. 博士学位论文. 重庆: 西南大学]
- Li WS, Chen B, He ZB. 2012. Comparison of the developmental and morphological characteristics of non-, winter- and summer-diapausing pupae of the onion maggot, *Delia antiqua* (Diptera: Anthomyiidae). *Acta Entomologica Sinica*, 55(7): 816–824 (in Chinese) [黎万顺, 陈斌, 何正波. 2012. 葱蝇非滞育、冬滞育和夏滞育蛹发育和形态特征比较. *昆虫学报*, 55(7): 816–824]
- Li ZL, Huang SS, Wang YQ, Zeng DQ, Wei SD. 2012. Distinguishing larval instars of melon fly, *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae). *Plant Quarantine*, 26(4): 42–44 (in Chinese) [李子玲, 黄树生, 王玉群, 曾东强, 韦淑丹. 2012. 瓜实蝇幼虫的分龄方法. *植物检疫*, 26(4): 42–44]
- Liang GQ. 2011. *Fruit flies (Diptera: Tephritidae: Dacinae: Trypetinae: Tephritinae)*. Beijing: China Agricultural University Press, pp. 10–11 (in Chinese) [梁广勤. 2011. 实蝇(Diptera: Tephritidae: Dacinae: Trypetinae: Tephritinae). 北京: 中国农业出版社, pp. 10–11]
- Liu XL, Ma JG, Li F. 2020. Regional differences in the occurrence of *Neoceratitis asiatica* (Becker) and cumulative effects of different production modes. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 48(13): 128–129, 134 (in Chinese) [刘晓丽, 马建国, 李锋. 2020. 枸杞实蝇发生的区域差异及不同生产模式的累积效应. *安徽农业科学*, 48(13): 128–129, 134]
- Loercher CR, Cameron EA. 1983. Determination of larval instars of the bronze birch borer, *Agrilus anxius* (Coleoptera: Buprestidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 76(6): 948–952
- Lu JJ, Ren MF, Li DQ, Gao XY, Yang J, Dong JM. 2020. Determination of larval instars of *Holotrichia oblita* (Coleoptera: Melolonthidae). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 57(5): 1206–1212 (in Chinese) [陆俊蛟, 任美凤, 李大琪, 高晓云, 杨静, 董晋明. 2020. 华北大黑鳃金龟幼虫龄期的划分. *应用昆虫学报*, 57(5): 1206–1212]
- Nomura M, Ishikawa Y. 2000. Biphasic effect of low temperature on completion of winter diapause in the onion maggot, *Delia antiqua*. *Journal of Insect Physiology*, 46(4): 373–377
- Wang H, Tang C, Qi LL, Dong CN, Song ZY, Ren XP. 2020. Puparium color variation of *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) and its significance for the estimation of the postmortem interval. *Acta Entomologica Sinica*, 63(8): 1010–1015 (in Chinese) [王贺, 唐晔, 齐莉莉, 董春楠, 宋兆昱, 任晓鹏. 2020. 丝光绿蝇蛹壳颜色变化及其对死后间隔时间推断的意义. *昆虫学报*, 63(8): 1010–1015]
- Wang H, Wang H, Wang WJ, Li J, Zhao WA, Qi LL. 2017. Pupal morphogenesis of *Lucilia cuprina* (Diptera: Calliphoridae) under natural conditions and its significance in forensic medicine. *Acta Entomologica Sinica*, 60(2): 222–228 (in Chinese) [王贺, 王辉, 王卫杰, 李嘉, 赵文爱, 齐莉莉. 2017. 自然条件下铜绿蝇蛹发育形态及其法医学意义. *昆虫学报*, 60(2): 222–228]
- Wu FZ, Huang RX, Meng QX, Liang ZQ. 1963. Studies on the life history and the control of lycium fruit fly, *Neoceratitis asiatica* (Becker) (Diptera, Trypetidae). *Journal of Plant Protection*, 2(4): 387–398 (in Chinese) [吴福祯, 黄荣祥, 孟庆祥, 梁兆祺. 1963. 枸杞实蝇的研究. *植物保护学报*, 2(4): 387–398]
- Wu FZ, Meng QX. 1963. Distribution, pests, living habits and control methods of *Neoceratitis asiatica* (Becker). *Ningxia Journal of Agriculture and Forestry Science and Technology*, 4(6): 35–37 (in Chinese) [吴福祯, 孟庆祥. 1963. 枸杞实蝇的分布、为害、生活习性和防治方法. *宁夏农业科学通讯*, 4(6): 35–37]
- Zhang JY, Ge J, Wei JN. 2015. Impact of cold storage on the pupal development and survivorship of *Liriomyza sativae*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 52(1): 184–192 (in Chinese) [张金钰, 葛璠, 魏佳宁. 2015. 冷藏对美洲斑潜蝇蛹期发育和生存的影响. *应用昆虫学报*, 52(1): 184–192]
- Zheng N, Tang G, Zhu GH, Niu HB, Fan XM, Liu J, Chen XX. 2016. The primary study of postmortem interval estimation by the lipid in puparium cases of Diptera: Calliphoridae. *Chinese Journal of Forensic Medicine*, 31(5): 467–469 (in Chinese) [郑娜, 唐谷, 朱光辉, 牛慈笨, 范新民, 刘杰, 陈献雄. 2016. 应用丽蝇蛹壳脂类推断死亡时间的基础研究. *中国法医学杂志*, 31(5): 467–469]
- Zhou B. 2005. *Bionomics of Bactrocera tau* (Walker) (Diptera: Tephritidae) and the effect of foods on population dynamics. Master thesis. Chongqing: Southwest University (in Chinese) [周波. 2005. 南亚实蝇生物学特性及不同食料对其种群增长的影响. 硕士学位论文. 重庆: 西南农业大学]
- Zhou XM, Li BS, Liu B, Wang YJ, Ye BH. 2017. Preliminary investigation on the identification of the larval stages of the *Bactrocera dorsalis* Hendel. *Plant Quarantine*, 31(2): 17–22 (in Chinese) [周小妹, 李柏树, 刘波, 王跃进, 叶保华. 2017. 桔小实蝇幼虫龄期鉴别初步研究. *植物检疫*, 31(2): 17–22]

(责任编辑:李美娟)