



商颖婕, 倪美虹, 刘睿, 马骏, 蒋明星. 四纹豆象幼期检疫技术的改进 [J]. 环境昆虫学报, 2026, 48 (2): 637-644. SHANG Ying-Jie, NI Mei-Hong, LIU Rui, MA Jun, JIANG Ming-Xing. Improvement of quarantine techniques for detecting early-stage *Callosobruchus maculatus* Fabricius [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2026, 48 (2): 637-644.

## 四纹豆象幼期检疫技术的改进

商颖婕<sup>1</sup>, 倪美虹<sup>1</sup>, 刘睿<sup>1</sup>, 马骏<sup>2</sup>, 蒋明星<sup>1\*</sup>

(1. 浙江大学昆虫科学研究所/农业农村部农业昆虫学重点实验室/浙江省作物病虫害生物学与生态调控重点实验室, 杭州 310058;  
2. 广州海关技术中心, 广州 5106232)

**摘要:** 【目的】四纹豆象是我国进境植物检疫性害虫、农业植物检疫性害虫, 严重威胁储藏豆类安全, 目前虽有多种检测方法, 但在检测准确度、操作简便性等方面存在不足, 而且均针对幼虫、蛹和成虫期, 缺乏卵的检测方法, 易导致漏检。本研究针对现行漂浮法(采用饱和NaCl溶液)检测中蛀害程度较轻豆粒难以浮起、卵检测方法缺失的问题, 优化四纹豆象幼虫及卵的检疫检测方法, 为提升检疫准确性提供支撑。【方法】通过对比绿豆粒在饱和NaCl和CaCl<sub>2</sub>溶液中的漂浮特性, 以明确最优检测溶液及浓度; 同时选取绿豆、豌豆、黄豆、蚕豆、鹰嘴豆5种常见豆粒, 分别采用吐温80 1%、5%、10%、20% 4种浓度溶液浸泡, 设置不同浸泡时间梯度, 测定各处理组豆粒表面四纹豆象卵粒的脱落比例。【结果】采用1.35 g/cm<sup>3</sup>的CaCl<sub>2</sub>溶液可提高检出率, 尤其对低龄幼虫的检出具有明显优势, 可将最早检出时间提前至初孵幼虫蛀入豆粒后24 h。不同浓度吐温80溶液对豆粒表面卵粒均有一定洗脱效果, 但脱落比例因豆粒种类和浸泡时间而异; 当采用5%吐温浸泡4 h后, 绿豆和豌豆上80%~85%卵粒脱落, 黄豆和蚕豆上为60%左右, 但鹰嘴豆上仅35%。【结论】采用1.35 g/cm<sup>3</sup>的CaCl<sub>2</sub>溶液漂浮豆粒是一种检测被四纹豆象幼虫轻度为害豆粒的有效方法, 5%吐温(浸泡4 h)则对检测绿豆、豌豆上的四纹豆象卵粒较为有效。研究结果可为优化当前的四纹豆象检疫技术提供参考。

**关键词:** 检疫技术; 四纹豆象; 幼虫发育阶段; 漂浮法; 卵粒洗脱

中图分类号: Q968.1

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2026) 02-0637-08

## Improvement of quarantine techniques for detecting early-stage *Callosobruchus maculatus* Fabricius

SHANG Ying-Jie<sup>1</sup>, NI Mei-Hong<sup>1</sup>, LIU Rui<sup>1</sup>, MA Jun<sup>2</sup>, JIANG Ming-Xing<sup>1\*</sup> (1. Ministry of Agriculture and Rural Affairs Key Laboratory of Agricultural Entomology/Zhejiang Key Laboratory of Biology and Ecological Regulation of Crop Pathogens and Insects/Institute of Insect Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2. Technology Center of Guangzhou Customs, Guangzhou 510623, China)

**Abstract:** 【Aim】 *Callosobruchus maculatus* Fabricius is a quarantine pest for imported plants and agricultural plants in China, posing a severe threat to the safety of stored beans. Despite the availability of various detection methods, they are insufficient in terms of detection accuracy and operational simplicity, and they focus only on larvae, pupae, and adults, lacking a detection method for eggs, which can lead to missed identifications. This study addresses the issue of lightly infested beans failing to float in the conventional flotation method (using saturated NaCl solution), and the absence of an effective egg detection method. We aimed to optimize the quarantine detection methods for larvae and eggs of *C. maculatus* and provide support for improving quarantine accuracy. 【Methods】 The flotation characteristics of mung

基金项目: 国家重点研发计划 (2021YFD1400104)

作者简介: 商颖婕, 女, 硕士研究生, 研究方向为入侵生物学, E-mail: 22116222@zju.edu.cn

\*通讯作者 Author for correspondence: 蒋明星, 男, 博士, 教授, 研究方向为入侵生物学, E-mail: mxjiang@zju.edu.cn

收稿日期 Received: 2024-08-05; 修回日期 Revision received: 2025-09-25; 接受日期 Accepted: 2025-09-27

beans were compared in saturated NaCl and CaCl<sub>2</sub> solutions to determine the optimal detection solution and concentration. Meanwhile, five common types of beans (mung beans, peas, soybeans, broad beans, and chickpeas) were selected and immersed in 1%, 5%, 10%, and 20% Tween 80 solutions, and different soaking time gradients were set to compare the elution rates of *C. maculatus* eggs from the grain surface of each treatment group. **【Results】** Using a 1.35 g/cm<sup>3</sup> CaCl<sub>2</sub> solution enhanced detection rates, particularly for early-instar larvae, advancing the earliest detection time to 24 hours after initial larval infestation. Furthermore, all concentrations of Tween 80 solution demonstrated certain efficiency, but the elution rates varied with bean type and immersion duration. Specifically, after 4 hours of immersion in 5% Tween, 80%~85% of egg masses detached from mung beans and peas, approximately 60% from soybeans and broad beans, but only 35% from chickpeas. **【Conclusion】** These findings suggested that floating beans in a 1.35 g/cm<sup>3</sup> CaCl<sub>2</sub> solution was an effective method for detecting mung beans lightly infested by *C. maculatus* larvae, while 5% Tween (immersion for 4 hours) was more effective for detecting eggs of *C. maculatus* on mung beans and peas. The research results provided valuable insights for optimizing current quarantine techniques for *C. maculatus*.

**Key words:** Quarantine techniques; *Callosobruchus maculatus* Fabricius; larval developmental stages; flotation method; egg elution

四纹豆象 *Callosobruchus maculatus* Fabricius (鞘翅目豆象科) 为我国进境植物检疫性害虫、农业植物检疫性害虫, 钻蛀为害木豆、鹰嘴豆、菜豆、大豆、赤豆、绿豆、豇豆、蚕豆等多种豆类作物种子, 造成豆粒内部空洞而降低其经济价值。四纹豆象具耐热、耐寒、耐饥等适应能力, 传入后短期内种群可快速增长, 对豆类造成严重危害。该豆象通常将卵产于豆粒表面, 幼虫孵化后咬破种皮进入内部, 啃食豆内子叶获取营养; 蛀食期间, 在豆粒内历经幼虫期、蛹期及部分成虫期, 之后成虫方自羽化孔离开豆粒 (洪若豪, 1965)。在适宜温湿度 (27℃, RH 65%) 条件下, 四纹豆象在豆内的发育期 (从幼虫蛀入豆粒至成虫离开) 持续 30 d 左右, 明显长于成虫寿命 (3~20 d) (许渭根等, 1999; 王磊, 2019), 表明在四纹豆象传播、扩散过程中, 豆粒内部侵染 (Internal infestation) 的状态较为常见, 需要在检验检疫过程中准确检出被害豆粒, 以提高检测的准确性, 避免漏检。

目前已有许多技术应用于豆粒内部害虫检测, 包括声学探测法、染色法、近红外光谱检测法、整粒粮漂浮法、X 射线成像法等 (Milner, 1958; GB/T 24534.4-2009)。这些技术各有利弊。声学探测法、近红外光谱检测法以及 X 射线成像法虽先进, 但费用高、操作复杂, 需要专业的设备和人员。染色法则只能检验浅色种粒外表面的羽化孔, 不适用于样品大规模检测。相对而言, 整粒粮漂

浮法因其操作简便、成本低廉而被广泛应用。该方法基于虫体侵染后豆粒密度下降的原理 (Booker, 1967), 通过特定密度的溶液将被侵染的豆粒浮起, 从而将其与正常豆粒区分开; 常用溶液有 1.19 g/cm<sup>3</sup> 饱和 NaCl 溶液, 甚或直接用清水 (Apt *et al.*, 1950; White *et al.*, 1956; Peng and Morallo-Rejesus, 1987)。但漂浮法同样有其缺陷: 在侵染初期, 粮粒由于被害程度较轻, 有可能难以浮起而被漏检 (刘昌燕等, 2017)。对此, 有研究人员曾尝试调整盐溶液的密度以提高检测精度, 如 Richter (1994) 发现在检测被巴西豆象 *Zabrotes subfasciatus* Boheman 钻蛀的菜豆粒时, 若选用与待测样品相应的盐溶液密度 (1.24 g/cm<sup>3</sup>), 有助于提高检测精度。另外, 当前有关豆象的检测技术主要针对幼虫、蛹和成虫, 针对卵粒的检测和富集技术研究相对较少。取样筛分法 (Sampling and sieving method) 作为一种常用的检测方法, 可通过过筛分离其中游离的部分虫体或卵, 从而评估粮堆内部的害虫密度以及侵染状况 (Neethirajan *et al.*, 2007; 高华等, 2016)。这一方法的优点在于操作方便, 局限在于主要对成虫有效, 难以筛落藏匿于豆粒内部的四纹豆象幼虫和蛹, 而且对卵粒的筛落效果也较为有限 (Rajendran, 2005)。据观察, 四纹豆象产卵时会分泌一种名为 “Spumaline” 的淡黄色物质 (Hinton, 1981), 将卵粒紧密黏附于豆粒表面, 风干后成为卵粒外面的一层硬质透明外壳 (Alzouma, 1981; Credland,

1992; Caron *et al.*, 2004), 使得卵粒在检疫时难以通过漂浮、过筛等方法被有效检测, 增加了漏检风险。

针对上述侵染初期豆粒难以浮起、豆粒表面卵粒难以检测而易漏检的风险, 本研究以四纹豆象及其寄主绿豆为试验对象, 基于绿豆粒在饱和NaCl和CaCl<sub>2</sub>溶液(后者密度高于绿豆粒)中的漂浮特性差异, 观察了两者对被侵染豆粒的检出率; 比较了5种豆粒(绿豆、豌豆、黄豆、蚕豆和鹰嘴豆)分别经吐温80 1%、5%、10%和20%溶液浸泡后表面卵粒的脱落比例, 比较了不同浓度吐温80溶液对不同豆粒(绿豆、豌豆、黄豆、蚕豆和鹰嘴豆)表面四纹豆象卵粒的洗脱效果。目的是明确CaCl<sub>2</sub>溶液应用于轻度为害豆粒检测、吐温80溶液应用于卵粒洗脱的效果, 建立应用参数, 供相关检疫部门参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试虫源和寄主

四纹豆象由广州海关技术中心马骏老师提供, 用绿豆在温度(28 ± 1) °C、相对湿度(50 ± 5)%、光周期12 L: 12 D的智能人工气候室内饲养扩繁2~3代后供试。选用进出口货物中常见的5种寄主豆类供试, 分别为绿豆 *Vigna radiata* (L.) Wilczek、鹰嘴豆 *Cicer arietinum* L.、黄豆 *Glycine max* (L.) Merrill、青豌豆 *Pisum sativum* L.、蚕豆 *Vicia faba* L.。绿豆购自超市, 为普通食用类型, 其余4种皆购自滁州市滁谷食品有限公司。

### 1.2 方 法

#### 1.2.1 蛀食豆粒整粒粮漂浮法富集技术

豆粒密度估测: 以四纹豆象偏好的绿豆作为实验对象, 随机选取一定量颗粒饱满、大小接近的豆粒, 倒入NaCl溶液中, 用玻璃棒搅拌去除豆粒表面气泡, 将悬浮于液体中上部以及漂浮在液体表面的豆粒去除, 令初始绿豆粒的密度均大于盐水密度, 以避免密度过小的豆粒对后续实验结果产生干扰。将剩余的豆粒(即沉于水底者)捞出, 用清水反复冲洗, 去除表面盐分, 尔后平铺于白瓷盘上, 用吸水纸吸干表面水分后以锡箔纸包裹, 置于60°C电热鼓风干燥箱中烘干。用天平称量超过500粒绿豆的质量, 利用排水法测得其体积, 经计算得平均密度约为1.35 g/cm<sup>3</sup>。

溶液配置: 在室温约25°C下, 称取NaCl溶于

清水制成饱和NaCl溶液, 算得其密度为1.19 g/cm<sup>3</sup>; 同理, 称取CaCl<sub>2</sub>, 配制成密度等同于上述绿豆粒密度(1.35 g/cm<sup>3</sup>)的CaCl<sub>2</sub>溶液。

试虫接种: 将绿豆粒置于饲养盒中, 接种若干待产卵的雌成虫, 产卵一段时间后移走。由于四纹豆象卵粒附着于豆粒表面, 可以通过卵粒数直接判断内部钻蛀的虫体数量。在体视显微镜下将表面仅带有1枚卵粒的绿豆粒挑出单独放置, 在上述智能人工气候室内饲养。饲养过程中每日观察卵粒发育情况, 一旦卵粒由透明转为乳白色, 并且在体视显微镜下卵内已无法观察到幼虫虫体时, 便认为幼虫已成功孵化且钻入豆粒内部。将此类豆粒挑出, 单独放置在小型塑料盒中, 标记当日日期, 每个日期至少挑100粒以上。

漂浮法效果测定: 每隔5 d随机取出其中的20粒绿豆, 分别放在预先配置的NaCl、CaCl<sub>2</sub>溶液中进行漂浮试验。置于溶液中后, 用玻璃棒搅拌至豆粒表面无气泡, 待豆粒静止后统计呈漂浮状态的绿豆粒(未完全浸没于溶液中或完全浸没于溶液中但外表面与液面相切), 计算漂浮率。捞出绿豆粒, 用清水清洗后吸干表面水分, 在体视镜下解剖, 观察幼虫形态及头壳颜色、测量幼虫头宽, 判断幼虫龄期, 统计不同龄期的幼虫数量, 计算比例。每个观察日重复5次, 共试验100粒。

#### 1.2.2 豆粒表面附着卵粒的洗脱技术

试虫接种: 将5种供试豆类置于60°C电热鼓风干燥箱中烘干后静置至常温, 去除表皮破损明显或者有残缺的豆粒, 分别置于饲养盒中, 接种四纹豆象雌成虫产卵。每日定时观察雌成虫产卵情况, 将有卵粒的豆粒取出另外放置, 避免单粒豆粒上的卵粒过于密集。将带有卵粒的豆粒置于28°C智能人工气候箱中, 待卵大多发白后移至室温下备用。

吐温80的洗脱效果测定: 用蒸馏水将吐温80(国产分析纯)分别配制成体积浓度为1%、5%、10%、20%的溶液, 置于75 mL圆形有盖塑料盒(上口直径6.8 cm, 底部直径5.8 cm, 高2.2 cm)内, 接入20粒上述所收豆粒, 使豆粒浸没于溶液中。以等体积蒸馏水作为对照, 静置于28°C气候箱中, 每隔1 h统计脱落的卵粒(指完全离开寄主豆表面, 并游离在洗脱液体的卵), 计算洗脱率。每个浓度重复5次, 共100粒卵。

### 1.3 数据分 析

所有数据经Excel软件整理, 百分率数据经反

正弦转换后, 检验正态分布以及方差齐性, 若两者均符合, 采用单因素方差分析法 (One-way ANOVA) 分析显著性, 并采用Duncan's新复极差法进行均值多重比较; 若数据不符合正态分布, 则采用非参数检验中的Kruskal-Wallis检验法以及Mann-Whitney *U*检验法进行分析。取显著水平  $\alpha = 0.05$ 。分析软件为SPSS 26.0, 绘图软件为GraphPad Prism 8.0.2。

## 2 结果与分析

### 2.1 利用CaCl<sub>2</sub>溶液改进整粒粮漂浮法

由解剖结果可知, 在温度 ( $28 \pm 1$ ) °C、相对湿度 ( $50 \pm 5$ ) %、光周期 12 L : 12 D 条件下, 1、6、12、18、24、30 d后四纹豆象在绿豆粒中分别历经1、2、3、4龄幼虫、蛹和成虫共6个阶段, 30 d时羽化率达到40% (图1)。

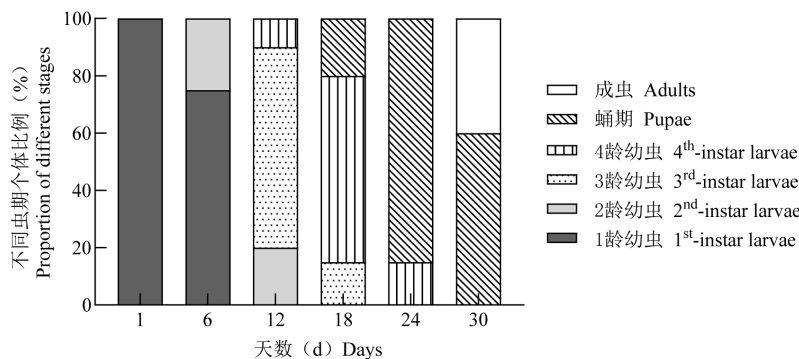


图1 绿豆粒中的四纹豆象经历不同发育天数后所处发育阶段个体比例

Fig. 1 Proportion of *Callosobruchus maculatus* at different developmental stages in mung beans across different days of development

对于内部有单头四纹豆象蛀食的绿豆粒而言, 直至幼虫发育到4龄 (12~18 d), 才有部分漂浮于饱和NaCl溶液 ( $1.19 \text{ g/cm}^3$ ) 中, 即利用饱和NaCl溶液无法浮选出已被幼虫侵染但危害程度较轻的绿豆粒 (图2-A、图3)。而在豆粒内部蛀食的幼虫发育至18 d后 (4龄及以上阶段), 其在饱和NaCl溶液中的漂浮率显著受发育时期影响 (One-way ANOVA,  $F_{5, 24} = 150.283$ ,  $P < 0.001$ ), 在多数近羽化时漂浮率达到最高值, 但也仅有50%。

在CaCl<sub>2</sub>溶液 ( $1.35 \text{ g/cm}^3$ ) 中, 含不同发育时期幼虫的绿豆粒皆出现一定程度的漂浮 (图2-B),

且各阶段的漂浮率均高于饱和NaCl溶液, 其中第1、6、12、30 d的差异达到显著水平 (图3, *t* test, 第1天:  $t = -8.645$ ,  $df = 8$ ,  $P = 0.016$ ; 第6天:  $t = -4.575$ ,  $df = 8$ ,  $P < 0.001$ ; 第12天:  $t = -10.007$ ,  $df = 8$ ,  $P < 0.001$ ; 第30天:  $t = -9.536$ ,  $df = 8$ ,  $P = 0.034$ )。与饱和NaCl溶液中相类似, 从第6天开始, 绿豆粒漂浮率也随着幼虫发育推进而显著上升 ( $F_{5, 24} = 24.675$ ,  $P < 0.001$ ), 最高达88.3%。当幼虫发育至第24~30天时检出率略有回落 (图3)。

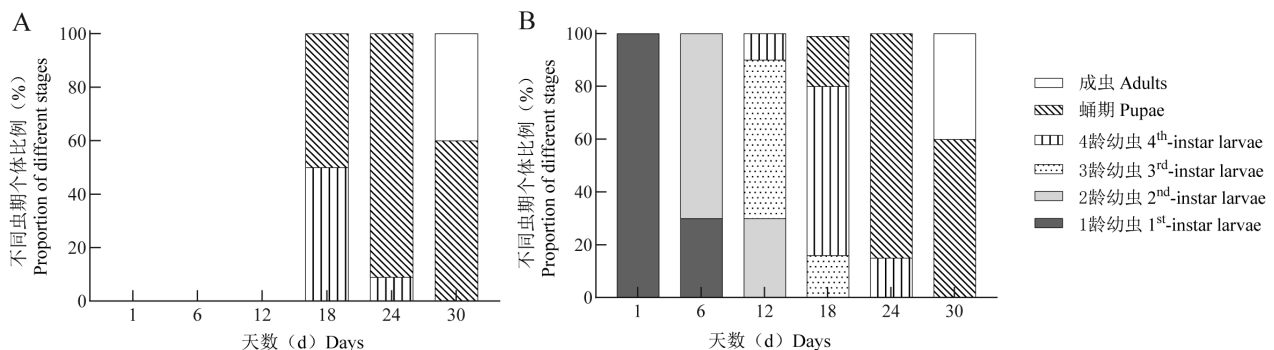


图2 在NaCl溶液 (A) 和CaCl<sub>2</sub>溶液 (B) 中漂浮的豆粒内不同发育阶段豆象个体比例

Fig. 2 Proportion of *Callosobruchus maculatus* at different developmental stages in mung beans that floated in NaCl solution (A) and CaCl<sub>2</sub> solution (B)

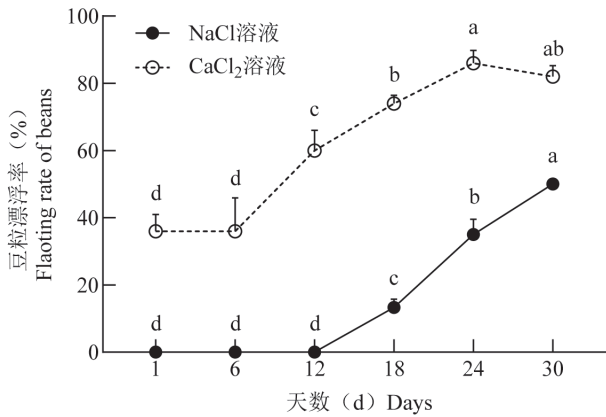


图3 不同发育天数下的绿豆粒在两种溶液中的漂浮率  
Fig. 3 Floation rate of mung beans in two solutions across different days of development

注：图中数字为平均数±标准误。均值具不同字母者表示同一溶液中的漂浮率在不同发育天数之间有显著差异 ( $P < 0.05$ )。Note: Data were mean ± SE. Mean value with different letters indicated significant differences among different days of development within the same solution at the 0.05 level.

### 2.2 吐温 80 溶液在卵粒洗脱中的应用

不同浓度的吐温 80 溶液对于 5 种豆粒上附着四纹豆象卵粒均有不同程度的洗脱作用，且卵粒洗脱率均随处理时间的延长有所上升（图 4）。

但洗脱效果因豆粒种类而异（表 1、表 2），以附着于绿豆、豌豆粒上的卵粒洗脱效果最好，浸泡时间相同时，各浓度吐温 80 溶液中绿豆表面卵粒的洗脱率均显著高于对照；对于豌豆上的卵粒，虽然 1 h 内洗脱效果与对照组差异不大 ( $P > 0.05$ )，但在 2 h、3 h、4 h 的浸泡后，各浓度溶液中的洗脱率均显著提升，且浸泡时间越长，洗脱率越高，浸泡 1 h、2 h、3 h、4 h 后洗脱率均值平均达到 15%、40%、50% 和 70% 左右。总体上，1% 与 5% 吐温 80 溶液的洗脱效果要明显优于 10% 与 20%，尤其在 5% 溶液中浸泡 4 h 后，部分重复中的卵粒洗脱率甚至达到 100%。

吐温 80 溶液对黄豆、蚕豆和鹰嘴豆上的卵粒也表现出一定的洗脱作用，但效果相对低于绿豆和豌豆上的卵粒。在黄豆上，4 h 后最高洗脱率可达 75%，而蚕豆和鹰嘴豆上的最高则分别为 57% 和 45%。同样，这些豆粒上的洗脱效果随浸泡时间延长而显著增加，尤以 5% 浓度中效果最为显著。这些结果表明，通过控制吐温 80 溶液的浓度和浸泡时间，可以实现对四纹豆象卵粒的高效洗脱，但洗脱效果与豆粒种类密切相关。

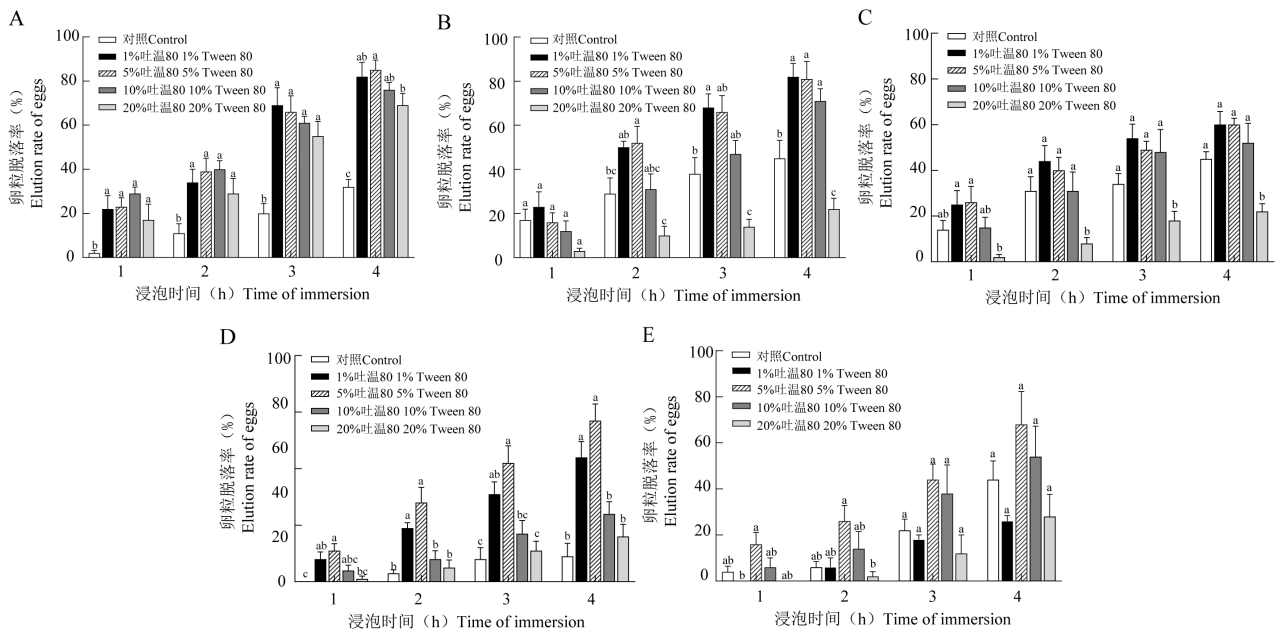


图4 绿豆 (A)、豌豆 (B)、黄豆 (C)、蚕豆 (D)、鹰嘴豆 (E) 上的卵粒经吐温 80 不同浓度溶液处理后的洗脱率  
Fig. 4 Elution rate of eggs from mung beans (A), green peas (B), soybeans (C), broad beans (D), chickpeas (E) in different concentrations of Tween 80 solution

注：图中数据为平均数±标准误。不同字母者表示在不同浓度处理之间差异显著 ( $P < 0.05$ )。Note: Data were mean ± SE. Different letters above the bars indicated significant difference between concentrations ( $P < 0.05$ ).

表 1 不同寄主上卵粒在各浓度吐温 80 溶液中的脱落比例与处理时长的关系分析

Table 1 Relationship analysis between elution rates of *Callosobruchus maculatus* eggs on various beans and treatment durations in Tween 80 solutions of different concentrations

豆类 Bean species	CK			1% 吐温 80 1% Tween 80			5% 吐温 80 1% Tween 80			10% 吐温 80 1% Tween 80			20% 吐温 80 1% Tween 80		
	df	<i>H</i>	<i>P</i>	df	<i>H</i>	<i>P</i>	df	<i>H</i>	<i>P</i>	df	<i>H</i>	<i>P</i>	df	<i>H</i>	<i>P</i>
绿豆 Mung beans	3	13.380	0.004*	3	14.266	0.003*	3	15.824	0.001**	3	16.701	<0.001**	3	13.962	0.003*
豌豆 Green pea	3	7.257	0.004*	3	15.424	<0.001**	3	13.738	0.003*	3	15.013	0.002*	3	10.817	0.013*
黄豆 Soybean	3	10.829	0.013*	3	9.942	0.019*	3	12.054	0.007*	3	8.756	0.033*	3	12.813	0.005*
蚕豆 Broad bean	3	5.116	0.164	3	15.969	0.001**	3	14.476	0.002*	3	10.245	0.017*	3	8.022	0.046*
鹰嘴豆 Chickpea	3	14.814	0.003*	3	15.171	0.002*	3	9.998	0.019*	3	9.772	0.021*	3	10.913	0.012*

注：\*和\*\*分别表示在 0.05 和 0.001 水平上差异极显著 (Kruskal-Wallis test)。表 2 同。Note: \* and \*\* indicated significant differences at the 0.05 and 0.001 levels, respectively (Kruskal-Wallis test). Same to Table 2.

表 2 不同寄主上卵粒在吐温 80 中处理一定时长后的脱落比例与所用溶液浓度的关系分析

Table 2 Relationship analysis between elution rates of *Callosobruchus maculatus* eggs on various beans and Tween 80 concentrations after specified treatment durations

豆类 Bean species	处理 1 h 1 h after treatment			处理 2 h 2 h after treatment			处理 3 h 3 h after treatment			处理 4 h 4 h after treatment		
	df	<i>H</i>	<i>P</i>	df	<i>H</i>	<i>P</i>	df	<i>H</i>	<i>P</i>	df	<i>H</i>	<i>P</i>
绿豆 Mung beans	4	13.030	0.011*	4	11.553	0.021*	4	13.594	0.009*	4	15.009	0.005*
豌豆 Green pea	4	7.140	0.129	4	15.341	0.004*	4	16.974	0.002*	4	16.831	0.002*
黄豆 Soybean	4	11.616	0.020*	4	12.038	0.017*	4	12.883	0.012*	4	14.588	0.006*
蚕豆 Broad bean	4	14.572	0.006*	4	17.080	0.002*	4	16.248	0.003*	4	19.209	<0.001**
鹰嘴豆 Chickpea	4	10.910	0.028*	4	10.104	0.039*	4	8.498	0.075	4	8.278	0.082

### 3 结论与讨论

在农产品检疫领域,快速、准确检测豆类中的检疫性害虫是防止其扩散、保障食品安全的关键环节。本研究针对传统漂浮法的弊端,对比了含四纹豆象的绿豆粒在饱和 NaCl 溶液和密度为 1.35 g/cm<sup>3</sup> 的 CaCl<sub>2</sub> 溶液中的漂浮特性,结果发现,相较于饱和 NaCl 溶液, CaCl<sub>2</sub> 溶液在提高检测效率方面具有显著优势:1.35 g/cm<sup>3</sup> CaCl<sub>2</sub> 溶液可较好区分含 1~2 龄幼虫的豆粒和完整的豆粒,对 1 日龄幼虫侵染的绿豆粒就能达到近 40% 的检出率。表明采用该浓度的 CaCl<sub>2</sub> 溶液,可将四纹豆象检出时间

提前至幼虫进入豆粒后 24 h 内,这对于提高四纹豆象检测效率、防止其传播扩散具有重要意义。

在四纹豆象检测实践中,除了幼虫发育阶段(豆粒被侵染程度),还有其他一些因素可能对检出率产生影响,包括成虫期的代谢活动状况、豆粒本身的密度、豆象种类等。成虫羽化之后有可能通过代谢活动增加个体重量,导致豆粒总重量增加而无法浮起。在被蛀食程度(幼虫所处发育期)相同的情况下,若豆粒本身的组织成分密度较大,即使已被幼虫蛀食到一定程度,仍无法浮起;而若豆粒不甚饱满而密度较小,则未被蛀食也会浮上液面,导致假阳性。若不同种类的豆象

密度存在差异, 则它们即使处于相同发育期, 被害豆粒在同一密度盐溶液中的浮起比例也会有差异, 例如, 在 Richter (1994) 的研究中, 被巴西豆象侵染的菜豆在成虫产卵后第 9~10 天即有部分可在饱和 NaCl 溶液中浮起, 但本研究中, 需当四纹豆象幼虫发育至 12 d 后才有可能在饱和 NaCl 溶液中浮起部分被害绿豆。因此, 在应用漂浮法时, 需要根据具体的豆类和豆象种类调整所用盐溶液的密度, 以提高检测效率和准确性。

此外, 针对四纹豆象卵粒牢固于豆粒表面而不易检到的情况, 本研究通过试剂浸泡使卵粒从豆粒表面脱落, 达到高效富集卵粒的目的。在前期, 作者曾观察水、乙醇、丙酮等溶液对卵粒的洗脱效果, 发现均不理想; 后考虑到吐温 80 作为一种常见的非离子表面活性剂, 具有增溶、乳化以及湿润效果, 方采用该试剂进行尝试。结果表明, 不同浓度的吐温 80 溶液对 5 种不同豆粒上的四纹豆象卵粒均表现出一定的洗脱效果, 且洗脱率随浸泡时间延长而增加, 4 h 后洗脱率最高可达到 100%。故吐温 80 溶液对四纹豆象卵粒的洗脱效果较为显著, 该做法可作为现有检测技术的有益补充。

然而, 吐温 80 对卵粒的洗脱效果同样与豆类、豆象的种类密切相关。在浸泡时间均为 4 h 时, 绿豆以及豌豆上卵粒的最高洗脱率 (分别为 85% 和 82%) 为鹰嘴豆 (34%) 上的近 2.5 倍。这种差异可能与不同豆粒外种皮的形状以及化学组分相关, 绿豆、豌豆外种皮表面的外轮廓均较为规整且呈现油性的光滑, 但鹰嘴豆的外轮廓凹凸不平且种皮质地粗糙, 一定程度上会增大卵粒在其表面的黏附作用, 从而降低洗脱率。另外, 除四纹豆象以外, 还有一些进境检疫的豆象科害虫其卵粒会紧紧黏附在豆表面, 不易脱落, 如鹰嘴豆象 *Callosobruchus analis* Fabricius、灰豆象 *Callosobruchus phaseoli* Gyllenhal、罗得西亚豆象 *Callosobruchus rhodesianus* Pic、西非花生豆象 *Callosobruchus subinnotatus* Pic、花生豆象 *Caryedon serratus* Olivier、巴西豆象 (张生芳和刘永平, 1989; 番启山和焦晓品, 1991; 张玉茹等, 1993)。吐温 80 对这些豆象卵粒的洗脱效果还不得而知。但是, 不论是哪种寄主豆粒, 根据本研究来看, 延长浸泡时间有助于增强洗脱效果, 值得尝试; 对于难以脱离的卵粒, 还可考虑借助外力

的震动或摩擦加速其脱落。因此, 在检疫过程中若将化学试剂浸泡与超声震动等技术相结合, 同时针对不同豆类或豆象种类优化溶液浓度和洗脱时间, 有望形成更为高效和准确的豆象综合检测方案。

## 参考文献 (References)

- Alzouma I. Observations on the ecology of *Bruchidius atrolineatus* (Pic) and *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) in Niger [M]. Labeyrie V, ed. The Ecology of Bruchids Attacking Legumes (Pulses). Dordrecht: Springer Netherlands, 1981: 205–213.
- Apt AC. A method for detecting hidden infestation in wheat [J]. *Milling Production*, 1950, 5: 1–5.
- Booker RH. Observations on three bruchids associated with cowpea in northern Nigeria [J]. *Journal of Stored Products Research*, 1967, 3 (1): 1–15.
- Caron E, Ribeiro-Costa CS, Linzmeier AM. The egg morphology of some species of *Sennius bridwell* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) based on scanning electron micrographs [J]. *Zootaxa*, 2004, 556: 1–10.
- China General Administration of Quality Supervision and Quarantine, Standardization Administration of China. GB/T 24534.4–2009 Determination of hidden insect infection in cereals and legumes – Part 4: Rapid method [S]. Beijing: Standards Press of China, 2009. [中国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 24534.4—2009 谷物与豆类隐性昆虫感染的测定 第 4 部分: 快速方法 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2009]
- Credland PF. The structure of bruchid eggs may explain the ovicidal effect of oils [J]. *Journal of Stored Products Research*, 1992, 28 (1): 1–9.
- Fan QS, Jiao XP. Study on biological characteristics and control of *Callosobruchus phaseoli* Gyllenhal [J]. *Journal of Yunnan Agricultural University*, 1991, 6 (4): 241–245. [番启山, 焦晓品. 灰豆象的生物学特性及防治研究 [J]. 云南农业大学学报, 1991, 6 (4): 241–245]
- Hong RH. Study on biological characteristics and fumigation methods of *Callosobruchus quadrimaculatus* Fabr. [J]. *Journal of Plant Protection*, 1965, 4 (3): 249–254. [洪若豪. 四纹豆象 (*Callosobruchus quadrimaculatus* Fabr.) 生物学特性和熏蒸方法研究 [J]. 植物保护学报, 1965, 4 (3): 249–254]
- Milner M. New methods to detect and eliminate insect-infested grain [M]. Mrak EM, Stewart GF. *Advances in Food Research*. Academic Press, 1958: 111–131.
- Neethirajan S, Karunakaran C, Jayas DS, et al. Detection techniques for stored-product insects in grain [J]. *Food Control*, 2007, 18 (2): 157–162.
- Peng WK, Morallo RB. Grain storage insects. Rice Seed Health [C]. Proceedings of the International Workshop, 1987.
- Rajendran S. Detection of Insect Infestation in Stored Foods [M].

- Academic Press, 2005, 49: 163–232.
- Richter K, Tchallale P. Improved early detection of internal infestation by flotation using product-adapted salt solutions [C]. Stored Product Protection: Proceedings of the 6<sup>th</sup> International Working Conference on Stored Product Protection, 1994, 444–447.
- Wang L. Response Mechanism of *Tribolium castaneum* and *Callosobruchus maculatus* Exposure to Hypoxia/hypercapnia, eBeam and Methyl benzoate [D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2019. [王磊. 赤拟谷盗和四纹豆象对低氧/高二氧化碳、电离辐照和苯甲酸甲酯的响应机制 [D]. 上海: 上海交通大学, 2019]
- Xu WG, Zhao L, Wang JW, *et al.* Observation on the occurrence rule and living habit of *Callosobruchus quadrimaculatus* Fabr. [J]. *Zhejiang Agricultural Sciences*, 1999, 5: 24–26. [许渭根, 赵琳, 王建伟, 等. 四纹豆象发生规律和生活习性观察 [J]. 浙江农业科学, 1999, 5: 24–26]
- Zhang SF, Liu YP. Rapid identification of eggs, larvae and adults of the *Zabrotes subfasciatus* [J]. *Plant Quarantine*, 1989, 3 (2): 95–100. [张生芳, 刘永平. 巴西豆象卵、幼虫及成虫的快速鉴定研究 [J]. 植物检疫, 1989, 3 (2): 95–100]
- Zhang YR, Liu YP, Zhang SF. Test on the method of stain detection of Bean weevil [J]. *Plant Quarantine*, 1993, 7 (3): 165–166. [张玉茹, 刘永平, 张生芳. 菜豆象的染色检出法试验 [J]. 植物检疫, 1993, 7 (3): 165–166]