

# 低溫保存對卵寄生蜂平腹小蜂 (*Anastatus japonicus*) (膜翅目：旋小蜂科) 之影響

吳怡慧<sup>1</sup>、潘宣任<sup>2</sup>、李世仰<sup>1</sup>、莊益源<sup>3</sup>、曾喜育<sup>4</sup>、周明儀<sup>5\*</sup>

<sup>1</sup> 行政院農業委員會苗栗區農業改良場。363苗栗縣公館鄉館南村261號。

<sup>2</sup> 行政院農業委員會茶業改良場。326 桃園市楊梅區埔心中興路324號。

<sup>3</sup> 國立中興大學昆蟲學系。402台中市南區興大路145號。

<sup>4</sup> 國立中興大學森林學系。402台中市南區興大路145號。

<sup>5</sup> 國立中興大學農業推廣中心。402台中市南區興大路145號。

\* 聯絡作者，E-mail: mingyichou@nchu.edu.tw

## 摘要

吳怡慧、潘宣任、李世仰、莊益源、曾喜育、周明儀。2023。低溫保存對卵寄生蜂平腹小蜂 (*Anastatus japonicus*) (膜翅目：旋小蜂科) 之影響。植物醫學65(1): 1-8。

荔枝椿象 (*Tessaratoma papillosa* (Drury)) 為近年來台灣危害嚴重之入侵害蟲，其在台灣之危害植物包括重要經濟之果樹龍眼、荔枝及常見公園、校園栽種樹種台灣欒樹和無患子。平腹小蜂 (*Anastatus japonicus* Ashmead) 為臺灣田間荔枝椿象卵期常見之卵寄生蜂，是目前荔枝椿象綜合管理策略中生物防治重要的一環。然而一年一代的荔枝椿象無法大量生產天敵飼養所需的卵量，本研究針對使用蓖麻蠶卵作為平腹小蜂大量飼養替代寄主，以低溫12°C 保存處理對平腹小蜂羽化及其子代之寄生能力的影響進行探討。結果顯示平腹小蜂以0-3日發育日數，最適合進行低溫12°C 保存處理，可保存至5個月與對照組之羽化率64.8% 間沒有顯著差異，但至第6個月則有顯著降低。而經低溫保存1-5個月後所羽化的平腹小蜂雌蜂，其寄生能力沒有顯著差異，於7至13日齡連續寄生7日，羽化的平腹小蜂子代數量最低皆有59.8隻以上，而且雌蜂比率有71% 以上。本試驗結果可實際應用於平腹小蜂量產技術，提前進行寄生作業，以增加平腹小蜂數量，並可適時提供田間釋放作業之所需，有利於進行荔枝椿象之生物防治。

關鍵詞：低溫保存、大量飼養、替代寄主、平腹小蜂

## 緒言

荔枝椿象 (*Tessaratoma papillosa* (Drury)) 為外來入侵害蟲，於2009 年入侵臺灣本島高雄市區<sup>(7)</sup>，其寄主植物包括龍眼、荔枝、無患子和臺灣欒樹等四種無患子科植物。因於產卵期常聚集於花、果穗及嫩梢處刺吸危害，影響荔枝及龍眼產量。而其受驚擾時會噴出具有腐蝕性的臭液，會造成人體皮膚灼傷，引起農民及民眾的恐慌，因此不僅為農業害蟲也是都市滋擾性害蟲。目前針對荔枝椿象的防治推行綜合害蟲管理 (integrated pest management, IPM) 策略，應用方法包括化學、物理及生物防治等，生物防治則於荔枝椿象卵期釋放常見的本土性天敵卵寄生蜂平腹小蜂 (*Anastatus japonicus* Ashmead)<sup>(36)</sup>。*Anastatus* 屬寄生蜂，於全球廣泛應用在半翅目和鱗翅目的害蟲防治<sup>(9, 12, 23, 31)</sup>。黃等<sup>(16)</sup>於中國廣州進行平腹小蜂野生族群田間調查，顯示於荔枝椿象產卵初期3月時平腹小蜂的自然寄生率仍低，但至5月其寄生率可達8成。此結果與在苗栗縣西湖鄉所調查的寄生情形相似，在荔枝椿象產卵初期2-3月時，田間平腹小蜂寄生率尚低，因此需以人工大量釋放，以達防治荔枝椿象卵孵化的效果<sup>(37)</sup>。

低溫保存應用於生物防治的研究迄今已超過90年，相關應用技術可延緩發育而延長寄生蜂的壽命和調整充足供應量，為量產技術不可或缺的一環<sup>(11, 27)</sup>。低溫保存讓寄生蜂可以延長保存時間，也讓生產者能調整擴大飼養寄生蜂的總量，用於配合害蟲發生季節時的田間釋放作業，也為量產作業提供更多效率和機動性<sup>(15, 19, 30)</sup>。另一項優點是低溫保存減少人工飼養的世代，提高遺傳的穩定性<sup>(8)</sup>。

寄主種類、低溫處理溫度、光週期、持續時間與昆蟲齡期

## 2 J. Plant Med.

等差異是影響寄生蜂低溫保存的因子<sup>(10, 33)</sup>。通常低溫處理的溫度會在0°C 以上避免造成高死亡率，一般適合低溫處理的溫度介於5-15°C<sup>(13, 18, 33, 34)</sup>。寄生蜂未成熟期 (immatures) 為主要在寄主體內越冬的生長期，因此在低溫保存時的昆蟲齡期最常以不同的幼蟲期及蛹期進行試驗<sup>(5)</sup>。但有些寄生蜂如 *Trissolcus biproruli* Girault、*Telenomus californicus* Ashmead 則是以成蟲方式越冬<sup>(17, 32)</sup>；*Trissolcus basalis* (Wollaston) 之成蟲雌蜂方式即以低溫15、18°C 環境下保存至120和180天，且不影響其繁殖力<sup>(14)</sup>。但 *Trissolcus japonicus* (Ashmead) 成蟲經16°C低溫環境90天，雖不影響其存活力，但繁殖力卻會明顯降低<sup>(4)</sup>。因此不同種類的寄生蜂對低溫的耐受力存在差異，需評估昆蟲冷藏的適應性，並非所有物種都能夠進行低溫處理<sup>(6, 18)</sup>。黃等<sup>(16)</sup>將平腹小蜂 (*A. japonicus*) 在不同發育齡期以0-5、4-8及10-12°C 等3個低溫處理保存，試驗結果顯示二齡幼蟲以10-12°C 儲存後180天的羽化率97.3% 為最佳，但在預蛹期進入低溫後僅有34% 羽化。Zhao等<sup>(38)</sup>在平腹小蜂 (*A. japonicus*) 二至三齡幼蟲，經過低溫和短光周期的誘導滯育處理後，可提高在低溫保存後的羽化率。

因荔枝椿象一年一世代，無法整年飼養作為天敵寄主，需以替代寄主才能大量生產平腹小蜂作為大量釋放之用。因蓖麻蠶 (*Samia cynthia* (Drury)) 於臺灣可全年飼養，且產卵量多，為目前最適合之替代寄主，食草蓖麻種植方便，目前已建立以蓖麻蠶為替代寄主進行量產平腹小蜂的飼養流程<sup>(35)</sup>。本試驗探討平腹小蜂寄生於替代寄主蓖麻蠶卵後於不同發育階段進行12°C 低溫下保存的效果，並評估其羽化的子代寄生能力是否受影響，本研究之結果可應用於提早進行平腹小蜂量產作業，並可適時提供田間釋放作業所需。

## 材料與方法

### 一、供試蟲源

#### (一)、平腹小蜂

於2017及2020年在臺灣各地採集龍眼葉片上的荔枝椿象卵塊攜回實驗室，將自荔枝椿象卵內所羽化之平腹小蜂，依Peng等<sup>(33)</sup>所描述之形態特徵鑑定出平腹小蜂 (*A. japonicus*)，並將其飼育於行政院農業委員會苗栗區農業改良場生物防治分場，飼養室的光照設定為12小時光照、12小時黑暗，平均溫度及相對濕度分別為25 ± 1°C 及70-80% RH。羽化後之寄生蜂飼育於150網目尼龍布的飼養箱 (24.5 cm × 24.5 cm × 63 cm)，供給蜂蜜作為食物。在雌蜂第5-7日齡時以蓖麻蠶卵做為雌蜂產卵的替代寄主，重複相同步驟進行此寄生蜂之室內繼代飼育，子代寄生蜂分別供作試驗蟲源。

#### (二)、蓖麻蠶

在實驗室以蓖麻葉餵食蓖麻蠶幼蟲，待其羽化成蟲後，將雌、雄成蟲各一隻置入24網目的塑膠飼養箱 (30 cm × 30 cm × 30 cm)，將交尾後的雌成蟲移至塑膠盆 (56.5 cm × 47.5 cm × 15.5 cm) 待其產卵，每日收集卵塊後置於7 ± 1°C 冰箱 (東元，臺灣) 冷藏，經冷藏7日後取出，將20粒蓖麻蠶卵黏製成一卵片 (3 cm × 3 cm) 做為供試寄主。

### 二、低溫保存時間對平腹小蜂各發育期之影響

本試驗使用2017年所收集之平腹小蜂子代族群進行測試，共使用1,260隻七日齡平腹小蜂雌蜂所產的卵作為低溫保存處理的評估對象。雌蜂各別置於含一張蓖麻蠶卵片的培養皿內 (直徑9 cm)，並在培養皿上蓋內緣塗抹蜂蜜供其取食。雌蟲的產卵環境為室溫 (22 ± 2°C)，並在兩日後收取卵片。收取卵片後，分別置於室溫下0、3、6、9、12及15日，並從中隨機取30片卵片作為0-2、3-5、6-8、9-11、12-14及15-17日各發育期處理的重複樣本。以牛皮紙袋包裝後，依黃等<sup>(19)</sup>所研究的低溫保存溫度，放入溫度設定為12 ± 1°C 的低溫冷藏箱 (Firstek, cc-1，臺灣) 分別保存1-6個月。待儲存時間到後取出放置於室溫下，記錄各發育期處理之平腹小蜂羽化數量及雌蜂個體數，對照組則於室溫下記錄。

### 三、低溫保存時間對平腹小蜂子代 (F1) 寄生能力之影響

本試驗使用2020年自田間所收集之平腹小蜂子代在蓖麻蠶卵所產之子代 (F1) 進行測試，將經寄生處理後之卵片，分別置於低溫冷藏箱 (12 ± 1°C、70-80% RH) 保存1-5個月。試驗期間，每個月自冷藏箱取出30個卵片，放入150網目尼龍布的飼養箱。待成蟲羽化七日後，自每儲存時間處理所羽化的成蟲中取30隻平腹小蜂雌蜂各別置於培養皿內，並於培養皿上蓋內緣塗抹蜂蜜，每日供給雌蜂一片20粒蓖麻蠶卵所組成之卵片供其產卵24小時，並連續收集七天所產之子代。對照組則為30隻未經冷藏處理之七日齡F1雌蜂在七天中所產之寄生之卵片，寄生完的卵片則統一放置於室溫，保存至卵粒內小蜂羽化，記錄子代 (F2) 羽化總數量及雌蜂比率。

### 四、統計分析

本研究就平腹小蜂以不同低溫保存時間處理、低溫對子代寄生能力影響之上述試驗的子代羽化數、羽化率及雌蜂比率數據，皆以 SAS Enterprise Guide 7.1軟體進行變異分析 (analysis of variance, ANOVA)，再以最小顯著性差異 (least significant difference, LSD) 測驗於5% 顯著水準下比較各處理平均值之差異。羽化率及雌蜂比率計算方式為羽化率 (%) = 羽化數 / (20粒卵) × 100%；雌蜂比率 (%) = 雌蜂 / (雌蜂+雄蜂) × 100%。平腹小蜂不同低溫保存時間羽化率及雌蜂比率圖以 SigmaPlot 10.0繪製。

## 結果

### 一、低溫保存時間對平腹小蜂各發育期之影響

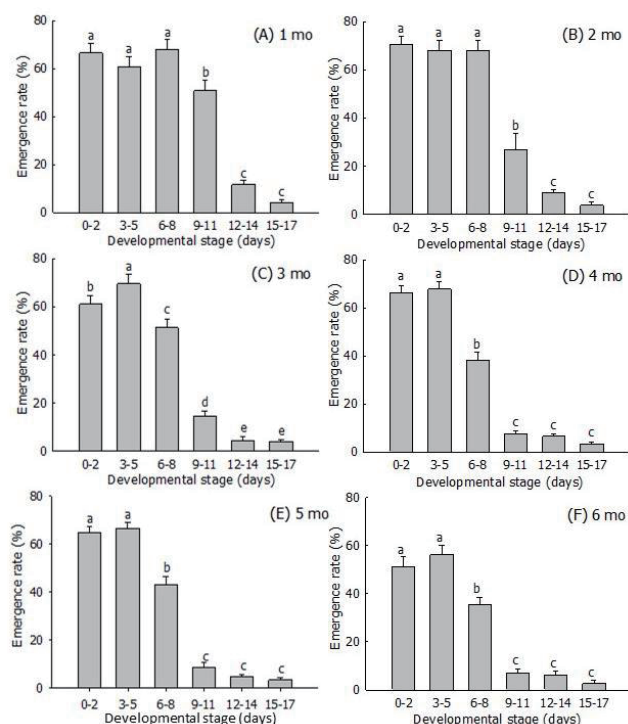
經平腹小蜂寄生的蓖麻蠶卵，經過0-2、3-5、6-8、9-11、12-14及15-17等日的發育時間，解剖觀察記錄蓖麻蠶卵內小蜂的發育情形發現，0-2日為卵至1齡幼蟲期，3-5日為1-2齡幼蟲期，6-8日為2-3齡幼蟲期，9-11日為3齡幼蟲期-蛹期，12日後則為蛹期。各發育階段在經過1-6個月的低溫儲存後，不但幼期發育階段、儲存時間對成蟲羽化率有顯著的影響 ( $P < 0.01$ )，

表一、平腹小蜂不同發育階段於 12°C 保存不同時間羽化率的變方分析表

**TABLE 1.** Results of ANOVA analysis for the emergence rate of *Anastatus japonicus* stored at the different developmental stages at 12°C for different months.

	DF	SS	MS	F
Developmental stage	5	712541.9	142508.3	617.2**
Store month	5	35823.6	7164.7	31.0**
Developmental stage x Store month	25	50102.0	2004.1	8.7**

\*\* Significant at 1% level



圖一、平腹小蜂不同發育階段於 12°C 保存 1-6 個月的羽化率。

**Fig. 1.** The emergence rate of *Anastatus japonicus* stored at different developmental stages at 12°C for 1-6 months. Error bar is the standard error of the mean. Means with the same letter(s) for each developmental stage (days) are not significantly different at the 5% level by Fisher's protected LSD test.

且兩者間存在著顯著的交互影響 ( $P < 0.01$ ) (Table 1)。不同的發育階段在相同低溫保存時間下的羽化率經變方分析的結果顯示，每個幼期發育階段經1至6個月的保存，其成蟲羽化率皆有顯著差異。其中以低溫保存1個月的8日內發育的寄生卵其羽化率最佳(圖一A)，各幼期發育階段在0-2、3-5及6-8日的成蟲羽化率分別為 $66.5 \pm 4.1$ 、 $60.7 \pm 4.3$ 及 $67.7 \pm 3.3\%$ ，且三者間沒有顯著差異，但與第9日及後續發育日數羽化率皆有顯著差異。低溫保存2個月(圖一B)同樣以幼期發育日數在8日內的寄生卵其羽化率最佳，且三發育階段間沒有顯著差異，0-2、3-5、6-8日的羽化率依序為 $70.5 \pm 3.4$ 、 $68.0 \pm 4.4$ 及 $67.9 \pm 2.8\%$ 與發育9日後才接受低溫處理的成蟲羽化率有顯著差異。低溫保存3個月後(圖一C)，以0-2及3-5日發育期放入低溫保存的成蟲羽化率最佳，分別為 $61.0 \pm 3.6\%$ 及 $69.5 \pm 3.8\%$ 。但在幼期發育6日後放入低溫環境保存，各處理其成蟲羽化率則明顯低於0-5日之處理組。低溫保存4個月(圖一D)於幼期發育前5日處理的成蟲羽化數分別為0-2日和3-5日的 $66.4 \pm 3.0$ 及 $67.7 \pm 3.5\%$ 明顯高於與後續的發育日數者的成蟲羽化率。低溫保存5個月(圖一E)後，亦以5日內的發育期作處理所得到的羽化率最佳，分別為 $65.0 \pm 2.5$ 及 $66.7 \pm 2.2\%$ ；並與第6日及之後的發育日數皆呈顯著差異。在經過低溫保存6個月後，於發育5日內移入低溫保存的成蟲羽化率最佳，為 $51.4 \pm 4\%$ 及 $56.3 \pm 3.7\%$ ，兩者間無顯著差異(圖一E)，但與後續發育日數者有顯著差異。

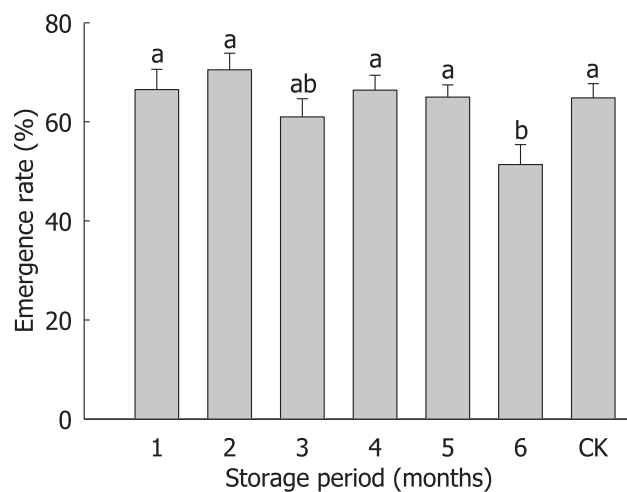
低溫處理幼期發育9-17天的平腹小蜂，由於此階段已進入三齡幼蟲及蛹的發育階段，本試驗發現部分小蜂於低溫保存期間羽化。此數據顯示低溫處理無法有效抑制此階段的幼蟲或蛹的發育，造成成蟲於保存期間羽化，因此無法列入羽化成蟲數紀錄。在幼期的發育後期，無論低溫儲存的時間，其成蟲羽化率皆未達50%。綜合各低溫儲存時間所得之平腹小蜂成蟲羽化結果顯示，在幼期發育前期階段( $\leq 5$ 日)，即進行12°C低溫保存可獲得較佳羽化率，隨著發育日數的增加則不利於低溫保存作業。

本試驗所記錄到未經低溫儲存處理的寄生卵之成蟲羽化率為 $64.8 \pm 2.9\%$ ，與在發育初期( $\leq 2$ 日)放入低溫儲存1-5個月後的寄生卵之成蟲羽化率無顯著差異，但與低溫儲存6個月處理組的 $51.4 \pm 4.0\%$ 羽化率呈顯著差異( $P < 0.05$ ) (圖二)。比較低溫保存處理時間1-6個月後羽化的成蟲子代中雌蜂比率，結果顯示無論保存時間與未經低溫儲存的對照組間並沒有顯著差異(圖三)。羽化成蟲中的雌雄個體約為1:1，沒有經過低溫保存的子代雌蜂比率為 $47.6 \pm 6.9\%$ ，而經1-6個月低溫保存後羽化的成蟲之雌蜂比率依序分別為 $44.5 \pm 6.2$ 、 $57.9 \pm 5.1$ 、 $45.3 \pm 6.2$ 、 $51.9 \pm 5.5$ 、 $61.0 \pm 5.0$ 及 $52.2 \pm 6.6\%$ 。

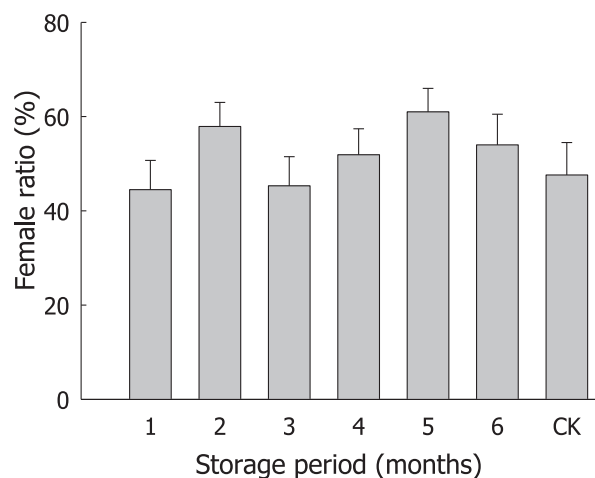
### 二、低溫保存時間對平腹小蜂子代(F1)寄生能力之影響

平腹小蜂本試驗收集150隻經低溫保存1-5個月後所羽化出之平腹小蜂子代(F1)，其寄生能力與未經低溫保存的對照組的

#### 4 J. Plant Med.



圖二、平腹小蜂於發育初期 ( $\leq 2$ 日)以  $12^{\circ}\text{C}$  保存 1-6 個月後的羽化率。  
**Fig. 2.** The emergence rate of *Anastatus japonicus* stored at the initial developmental stage ( $\leq 2$  d) at  $12^{\circ}\text{C}$  for 1-6 months. The error bars are the standard error of the means. Means with the same letter for each month are not significantly different at the 5% level by Fisher's protected LSD test.



圖三、平腹小蜂於發育初期 ( $\leq 2$ 日)以  $12^{\circ}\text{C}$  保存 1-6 個月後的羽化雌蜂比率。  
**Fig. 3.** The female ratio of *Anastatus japonicus* stored at the initial developmental stage ( $\leq 2$  d) at  $12^{\circ}\text{C}$  for 1-6 months. The error bars are the standard error of the means. The differences among treatment means are not significantly different at the 5% level by Fisher's protected LSD test.

表二、經低溫保存不同月份後羽化之平腹小蜂子代 (F1) 寄生能力

**TABLE 2.** Reproductive parameters of F1 *Anastatus japonicus* emerged from cold storage

Parameter	Cold storage period (months)					
	Control	1	2	3	4	5
Mean numbers of F2 progeny	62.9 $\pm$ 4.0 a <sup>1</sup>	64.2 $\pm$ 1.7 a	60.9 $\pm$ 1.2 a	60.9 $\pm$ 1.2 a	59.8 $\pm$ 1.0 a	61.9 $\pm$ 1.1 a
F2 female ratio (%)	79.0 $\pm$ 1.5 ab <sup>1</sup>	76.8 $\pm$ 0.9 bc	73.4 $\pm$ 2.3 cd	82.8 $\pm$ 0.8 a	80.7 $\pm$ 1.4 ab	71.7 $\pm$ 2.6 d

<sup>1</sup> Mean  $\pm$  standard error (n = 16). Means within each row followed by the same letter(s) are not significantly different at the 5% level by Fisher's protected LSD test.

寄生能力相比並無顯著差異，記錄可成功羽化的子代 (F2) (表二)。羽化的子代雌蜂比率雖在不同月份間呈顯著差異，但皆可達70%以上；其中以低溫保存3個月後子代的雌蜂比最高有  $82.8 \pm 0.8\%$ ，最低為保存第5個月的  $71.7 \pm 2.6\%$  (表二)。

## 討 論

低溫保存可以延長天敵昆蟲儲貨期 (shelf-life)，提供穩定充足的數量應用於生物防治<sup>(11)</sup>，不論是捕食性或寄生性天敵昆蟲，皆有低溫保存相關研究<sup>(27)</sup>。在寄生蜂的相關研究報告有條斑螟小繭蜂 (*Habrobracon hebetor* (Say))<sup>(8)</sup>、菜少脈野繭蜂 (*Aphidius matricariae* Haliday)<sup>(2, 29)</sup>、蚜蟲寄生蜂 (*Aphidius colemani* Viereck)<sup>(28)</sup>、粉蠹寄生蜂 (*Eretmocerus mundus* Mercet) 及東方果實蠅幼蟲寄生蜂 (*Psytalia incisi* (Silvestri))<sup>(20)</sup>等，而目前以被廣泛應用的赤眼卵蜂屬 (*Trichogramma*) 的相關文獻

最多<sup>(1, 3, 21, 24, 30)</sup>。

蒲等<sup>(26)</sup>於廣州的冬季11月，將寄生後的蓖麻蠶卵放置於低溫的戶外，而於12月至隔年3月後陸續解剖平腹小蜂，發現於卵內小蜂發育情形皆為老熟幼蟲，並以此過冬，但若將卵移到  $25-30^{\circ}\text{C}$  環境即會陸續羽化，因此表示平腹小蜂於冬季並非為滯育，而是發育延緩。Zhao et al.<sup>(38)</sup>以平腹小蜂 (*A. japonicus*) 寄生柞蠶 (*Antheraea pernyi* (Guérin-Méneville))，在2-3齡幼蟲階段於短光週期 (10小時光照:14小時黑暗) 和  $17^{\circ}\text{C}$  之環境下，可誘導滯育後於  $10^{\circ}\text{C}$  保存180天。本試驗結果顯示，蓖麻蠶卵在經平腹小蜂於寄生兩日後，於第9天後其發育狀態達到3齡幼蟲至蛹期，以  $12^{\circ}\text{C}$  低溫環境保存無法有效抑制幼期的發育，以致成蟲於保存期間羽化。而在發育初期 ( $\leq 5$ 日)，平腹小蜂發育狀態為卵至2齡期前進行低溫保存，不論是第1個月甚至或到第5個月的試驗，皆可維持最佳的羽化率。因此最適產作業操作方式為在寄生卵2日齡內保存於  $12^{\circ}\text{C}$  的低溫環境，則能保存1-5個月，且羽化率及雌蜂比率與對照組間無顯著差異。

本研究結果與黃等<sup>(16)</sup>試驗相近，該研究同樣以蓖麻蠶卵為替代寄主，將平腹小蜂 (*A. japonicus*) 在發育為2齡幼蟲狀態，於10-12°C 可長達6個月維持最佳保存狀態，但以預蛹階段保存則會影響羽化率，幼蟲齡期越低，休眠性越高。低溫保存寄生蜂之另一重要條件為替代寄主卵在低溫下之發育速度，李<sup>(20)</sup>以銀條斜線天蛾 (*Hippotion celerio* (Linnaeus)) 卵做為平腹小蜂 (*A. japonicus*) 替代寄主，蛹期於15°C 保存1週及3齡幼蟲於10°C 保存1週的羽化率為最佳，但此結果之低溫保存期限皆較使用蓖麻蠶卵較短，因此替代寄主卵的對溫度的表現亦為建立大量飼養所需考慮的要件之一。

前人研究顯示寄生蜂經低溫保存會影響其羽化率、雌蜂壽命、交尾行為、寄生能力和雌蜂比等<sup>(22, 27)</sup>，例如：蚜蟲寄生蜂 (*Ap. colemani*) 以殭蚜 (mummy) 狀態於低溫下保存20日後，其羽化率、成蟲壽命、體型大小及子代寄生率皆有隨著保存天數增加而遞減<sup>(28)</sup>。本試驗經12°C 低溫保存下平腹小蜂的子代寄生能力，在5個月內皆沒有顯著差異。雖F2雌蜂比率在經過5個月的低溫儲存最低降到71.7%，但在量產作業上仍可接受。

利用平腹小蜂進行生物防治，於荔枝椿象產卵初期開始大量釋放於田間，需有足夠的成蜂數量才能達到防治效果。本研究低溫保存結果，皆可應用在實際量產作業，在平腹小蜂寄生替代寄主蓖麻蠶卵兩日內，平腹小蜂卵或1齡幼蟲期時，放入12°C 低溫環境可保存5個月，不影響小蜂的羽化率和雌蜂比率及子代寄生能力。本結果操作方法簡易，僅需使用可調溫度之低溫冷藏櫃，即可於每年的10月開始陸續提早生產次年大量釋放所需的平腹小蜂，以增加生產量及減少在短時間需要大量人力的操作方式，並可依需要釋放的季節進行調配，為隔年的大量釋放做準備。

## 謝 辭

本研究承蒙行政院農業委員會動植物防疫檢疫局107農科-8.4.1-檢-B2、109年「全國荔枝椿象區域整合防治計畫」計畫經費補助，苗栗區農業改良場呂秀英場長協助統計分析，潘俞文及范桂英小姐協助進行試驗工作，特此致謝。

## 引用文獻

- Abbes, K., Zouba, A., Harbi, A., and Chermiti, B. 2020. Effect of cold storage on the performance of *Trichogramma bourarachae* (Pintureau and Babault) (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Egypt. J. Biol. Pest Control 30: 27.
- Al-Antary, T. M., and Abdel-Wali, M. I. 2015. Effect of cold storage on biological parameters of the aphid parasitoid *Aphidius matricariae* Haliday (Hymenoptera: Aphidiidae). E. Egypt. J. Biol. Pest Control 25: 697-702.
- Ayvaz, A., Karasu, E., Karaborklu, S., and Tuncbilek, A. 2008. Effects of cold storage, rearing temperature, parasitoid age and irradiation on the performance of *Trichogramma evanescens* Westwood (Hymenoptera: Trichogrammatidae). J. Stored Prod. Res. 44: 232-240.
- Bittau, B., Dindo, M. L., Burgio, G., Sabbatini-Peverieri, G., Hoelmer, K. A., Roversi, P. F., Masetti, A. 2021. Implementing mass rearing of *Trissolcus japonicus* (Hymenoptera: Scelionidae) on cold-stored host eggs. Insects 12: 840.
- Boivin, G. 1994. Overwintering strategies of egg parasitoids. Page 219-244 in: Biological Control with Egg Parasitoids. Wajnberg A, Hassan SA ed. CAB International, Wallingford. 289 pp.
- Cagnotti, C. L., Lois, M., López, S. N., Botto, N. E., and Viscarret, M. M. 2018. Cold storage of *Trichogramma nerudai* using an acclimation period. Biocontrol 63: 565-573.
- Cheng, T. Y. and Chen, W. H. 2018. Pest management strategy in eco-friendly farming system application of *Anastatus japonicus* to biological control litchi stink bug. Pages 125-140 in: Proceedings of the symposium on organic and eco-friendly farming. Shen, Y. M., Pai, K. F. and Lin, H. S. ed. Taichung District Agricultural Research and Extension Station, COA, Taiwan. 173 pp. (In Chinese).
- Chen, H., Zhang, H., Zhu, K. Y., and Throne, J. 2013. Performance of diapausing parasitoid wasps, *Habrobracon hebetor*, after cold storage. Biol. Control 64: 186-194.
- Chen, W., Zhang, H., Jing, X. Y., Li, Y., Wang, M. Q., Mao, J. J., Weng, Q. F., Nie, R., and Zhang, L. S. 2022. Cold storage of *Spodoptera litura* eggs and *Telenomus remus* adults for improving mass-rearing efficiency. J. Appl. Entomol.
- Cira, T., Santacruz, E. N., and Koch, R. L. 2021. Optimization of *Trissolcus japonicus* cold storage methods for biological control of *Halyomorpha halys*. Biol. Control 156: 104534.
- Colinet, H., and Boivin, G. 2011. Insect parasitoids cold storage: a comprehensive review of factors of variability and consequences. Biol. Control 58: 83-95.
- Dieckhoff, C., Tatman, K. M., and Hoelmer, K. A. 2017. Natural biological control of *Halyomorpha halys* by native egg parasitoids: A multi-year survey in northern Delaware. J. Pest Sci. 90: 1143-1158.
- Dindo, M. L., and Grenier, S. 2014. Production of dipteran parasitoids. Pages 202-143 in: Mass Production of Beneficial Organisms. Morales-Ramos, J. A., Rojas, M. G., and Shapiro-

## 6 J. Plant Med.

- Ilan, D. I. ed. Invertebrates and Entomopathogens. United Kingdom, London, 742 pp.
14. Foerster, L. A., and Doetzer, A. K. 2006. Cold storage of the egg parasitoids *Trissolcus basalus* (Wollaston) and *Telenomus podisi* Ashmead (Hymenoptera: Scelionidae). *Biol. Control* 36: 232-237.
  15. Garcia, P. V., Wajnberg, E., Pizzol, J., and Oliveira, M. L. M. 2002. Diapause in the egg parasitoid *Trichogramma cordubensis*: role of temperature. *J. Insect Physiol.* 48: 349-355.
  16. Huang, M. D., Mai, S. H., Wu, W. N., and Poo, C. L. 1974. The bionomics of *Anastatus sp.* and its utilization for the control of lichee stink bug, *Tessaratoma papillosa* Drury. *Acta Entomol. Sinica.* 17: 362-375. (In Chinese).
  17. James, D. G. 1988. Fecundity, longevity and overwintering of *Trissolcus biproruli* Girault (Hymenoptera: Scelionidae), a parasitoid of *Biprorulus bibax* Breedin (Hemiptera: Pentatomidae). *Aust. J. Entomol.* 27: 297-301.
  18. Leopold, R. A. 1998. Cold storage of insects for integrated pest management. Pages 235-267 in: *Temperature Sensitivity in Insects and Application in Integrated Pest Management*. Hallman, G. J., and Denlinger, D. L. ed. Westview Press, New York, 320 pp.
  19. Leopold, R. A., Rojas, R. R., and Atkinson, P. W. 1998. Post pupariation cold storage of three species of flies: increasing chilling tolerance by acclimation and recurrent recovery periods. *Cryobiology* 36: 213-224.
  20. Li, S. Y. 2013. A study of biological characteristics of *Anastatus japonicus*. National Pingtung University of Science and Technology. master's thesis. (In Chinese).
  21. Lü, X., Han, S., Li, J., Liu, J., and Li, Z. 2019. Effects of cold storage on the quality of *Trichogramma dendrolimi* Matsumura (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared on artificial medium. *Pest Manag. Sci.* 75: 1328-1338.
  22. Mahi, H., Rasekh, A., Shisehbor, P. 2017. The impact of cold storage on mating behavior of emerging adults and progeny fitness, in a parasitoid wasp, *Lysiphlebus fabarum*, under constant and fluctuating temperatures. *Appl. Entomol. Phytopathol.* 85: 1-10.
  23. Mi, Q., Zhang, J., Haye, T., Zhang, B., Zhao, C., Lei, Y., Li, D., and Zhang, F. 2021. Fitness and interspecific competition of *Trissolcus japonicus* and *Anastatus japonicus*, egg parasitoids of *Halyomorpha halys*. *Biocontrol* 152: 104461.
  24. Mohamed, H. O., El-Heneidy, A. H. 2020. Effect of cold storage temperature on quality of the parasitoid, *Trichogrammatoidea bactrae* Nagaraja (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Egypt. J. Biol. Pest Control* 30: 87.
  25. Peng, L. F., Tang, L., and Gibson, G. A. P. 2017. Redescription of the types of species of *Anastatus* Motschulsky, 1859 (Hymenoptera: Chalcidoidea: Eupelmidae) described by J. K. Sheng and coauthors. *Eur. J. Taxon.* 292: 1-24.
  26. Poo, Z. L., S. H. Mai, and M. D. Huang. 1962. The initially experimental report of utilizing *Anastatus sp.* to control *Tessaratoma papillosa*. *Acta Phytophylacica Sin.* 1: 301-306. (In Chinese).
  27. Rathee, M., and Ram, P. 2018. Impact of cold storage on the performance of entomophagous insects: An overview. *Phytoparasitica* 46: 421-449.
  28. Rezaei, M., Talebi, A. A., Fathipour, Y., and Karimzadeh, J. 2020. Effects of constant low-temperature storage on the performance of a commercial strain of *Aphidius colemani*. *Bull. Insectology* 73: 125-135.
  29. Rezaei, M., Talebi, A. A., Fathipour, Y., Karimzadeh, J., Mehrabadi, M., and Reddy, G. V. 2020. Effects of cold storage on life-history traits of *Aphidius matricariae*. *Entomol. Exp. Appl.* 168: 800-807.
  30. Tezze, A. A., and Botto, E. N. 2004. Effect of cold storage on the quality of *Trichogramma nerudai* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). *Biol. Control* 30: 11-16.
  31. Tillman, G., Toews, M., Blaauw, B., Sial, A., Cottrell, T., Talamas, E., Buntin, D., Joseph, S., Balusu, R., Fadamiro, H., Lahiei, S., and Patel, D. 2020. Parasitism and predation of sentinel eggs of the invasive brown marmorated stink bug, *Halyomorpha halys* (Stål) (Hemiptera: Pentatomidae), in the southeastern US. *Biol. Control* 145: 104247.
  32. Torgersen, T. R., and Ryan, R. B. 1981. Field biology of *Telenomus californicus* Ashmead, an important egg parasite of Douglas-fir tussock moth. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 74: 185-186.
  33. Tunca, H., Ugur, A., Ozkan, C., Durlu, M., and Moran, H. H. 2016. Effects of low temperature on the immature stage of *Trichogramma pintoi* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) reared on different host eggs. *Fresenius Environ. Bull.* 25: 4724-4731.
  34. van Lenteren, J. C., and Tommasini, M. G. 2002. Mass production, storage, shipment and quality control of natural enemies. Pages 276-294 in: *Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops*. Albajes, R., Gullino, M. L., van Lenteren J. C., and Elad, Y. ed. Springer, Dordrecht, 545 pp.
  35. Wu, D. J. 2019. A perspective and review on the development of sericulture and apiculture industry in Taiwan. Pages 1-10 in: *2019 Proceedings of Application of Beneficial Insects in Friendly Farming, Miaoli DARES, COA*. (In Chinese).

36. Wu, Y. H., and Lee S. Y. 2021. Effects of temperature on parasitism of two egg parasitoid wasps, *Anastatus japonicus* and *Anastatus dexingensis*. MDARES Bulletin. 10: 47-59. (In Chinese).
37. Wu, Y. H., Pan, H. J., Wu, D. J., and Lu, M. C. 2018. Litchi stink bug (*Tessaratoma papillosa*) control the application of its natural enemy, *Anastatus* spp. Pages 27-35 in: Proceedings of the symposium on achievements in plant protection and quarantine research 2018, Taipei. 248 pp. (In Chinese).
38. Zhao, C., Guo, Y., Liu, Z. X., Xia, Y., Li, Y. Y., Song, Z. W., Zhang, B. X., and Li, D. S. 2021. Temperature and photoperiodic response of diapause induction in *Anastatus japonicus*, an egg parasitoid of stink bugs. *Insects* 12: 872.
39. Zhao, C., Xia, Y., Guo, Y., Li, M., Zhang, B., and Li, D. 2019. The Study on Diapause Induction in *Anastatus japonicus* Ashmead. *Chinese Journal of Biological Control*. 35: 282-287.
40. Zhao, C., Zhang, B. X., Liu, Z. X., Zhang, H. Y., and Li, D. S. 2021. Effects of cold storage on host *Antheraea pernyi* egg quality for the egg parasitoid *Anastatus fulloi* Sheng and Wang. *Insects* 12: 1057.

the mass rearing of *A. japonicus*. Using the cold storage technique, the production of the biocontrol agent can start before *T. papillosa* becomes active in the spring. It provides the tool to achieve timely field release, which is essential to assure the effectiveness of *T. papillosa* biological control.

**Keywords:** cold storage, mass rearing, factitious host, *Anastatus japonicus*

## ABSTRACT

Yi-Hui Wu, Hsuan-Jen Pan, Shih-Yang Lee, Yi-Yuan Chuang, Hsy-Yu Tzeng, Ming-Yi Chou. 2023. Effects of cold storage on the egg parasitoids (*Anastatus japonicus*) (Hymenoptera: Eupelmidae). *Plant*. 65(1): 1-8.

\*Corresponding author, E-mail: mingyichou@nchu.edu.tw

*Anastatus japonicus* is a common egg parasitoid of *Tessaratoma papillosa* in Taiwan. In order to establish a mass rearing program for the parasitoid, this study examined the effects of low temperature (12 °C) storage on the survival of *A. japonicus* in the eggs of its factitious host, *Samia cynthia*. The results showed that the most suitable stage for the cold storage treatment was during the first five days of immature development. The emergence rates of parasitized eggs stored for up to 5 months were not significantly different from the untreated control group (64.8%). However, there was a significant reduction in the emergence rate for the eggs stored for 6 months. In addition, there was no significant difference in the parasitism rates among female *A. japonicus* wasps that emerged from 1-5 months of cold storage. The minimum number of progenies was 59.8 from the 7 to 13-day-old wasps with more than 71% of the progeny being female. The results of this study can be applied to

