星天牛幼虫龄期的划分*

张海滨[1,2**] 王建伟[3] 朱小峰[2] 陈学新[1***]

(1. 浙江大学昆虫研究所 杭州 310029;2. 湖州出入境检验检疫局 湖州 313000;
3. 浙江出入境检验检疫局 杭州 310000)

摘 要 本文测量了人工饲养的星天牛 *Anoplophora chinensis* (Forster)幼虫的 9 个形态结构数据,运用频次分布、均差分析和回归分析对测量数据进行统计分析,结果表明,星天牛幼虫可分 5 龄,其额宽是最佳的分龄结构,其次是上颚长和上颚宽。

关键词 星天牛,形态结构,龄期判定

Determination of larval instars of citrus long-horned beetle, *Anoplophora chinensis* (Coleoptera: Cerambycidae)

ZHANG Hai-Bin[1,2**] WANG Jian-Wei[3] ZHU Xiao-Feng[2] CHEN Xue-Xin[1***]

(1. Institute of Insect Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China;
2. Huzhou Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Huzhou 313000, China;
3. Zhejiang Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Hangzhou 310000, China)

Abstract Nine morphological structures of larvae of the citrus long-horned beetle, *Anoplophora chinensis* (Forster) (Coleoptera: Cerambycidae) were measured and analyzed statistically. The results indicate that the larval stage can be divided into five instars for which forehead width is the best indicator followed by mandible length and mandible width.

Key words citrus long-horned beetle, morphological structures, instars determination

星天牛 *Anoplophora chinensis* (Forster)是我国主要的林木害虫之一,属鞘翅目 Coleoptera,天牛科 Cerambycidae,星天牛属 *Anoplophora*。星天牛食性杂,能危害杨树、柳树、榆树、法国梧桐、枣树、板栗等多种树木,也是紫薇、悬铃木、柑橘的主要害虫(翟兴礼等,2000;陈丽,2008;林燕春等,2009;李长林等,2009)。

星天牛自然分布于中国、日本及韩国。2000 年该虫首次在意大利米兰的苗圃和温室被监测到,根据欧盟 2000/29/CE 指令,将其列为 A1 类检疫性有害生物。2004 年,星天牛在意大利的帕拉比尔暴发(殷玉生,2005)。2008 年以来国家质量监督检验检疫总局多次收到我国出口红枫的介质盆景或裸根植物被荷兰官方检出星天牛的通报,前后多达 14 批次,直接影响到我国输欧盆景的前景。

星天牛幼虫的准确鉴定对于该虫的监测和检疫非常重要,而龄期是幼虫期的一个重要特征。星天牛的幼虫到底有几个龄期目前还不清楚。Dyar 法则揭示,昆虫幼虫相邻两个龄期的某一部位的长宽度存在一定的几何级数关系,据此可以推断幼虫的龄数(赖开平等,2008)。本文对星天牛幼虫进行了实验室人工饲养,定期收集不同龄期的幼虫标本,测量标本的 9 个形态结构数据,并对其进行分析比较,寻找一种最佳划分龄期的结构。这对研究星天牛发生规律及生物学特性,制定防治技术以及获得天牛科幼虫便捷的分龄方法都有一定的指导价值。

1 材料与方法

1.1 幼虫的收集及饲养

* 资助项目:国家质量监督检验检疫总局科研项目"输欧盆栽植物有害生物综合防控技术研究(IK2009280)"。
** E-mail: zhb@hz.ziq.gov.cn
通讯作者,E-mail: xxchen@zju.edu.cn
收稿日期:2010-11-13,接受日期:2011-04-19

2009 年 6 月,试验组从杭州某盆景基地中的红枫苗圃捕获羽化的星天牛成虫 30 头。选择 20 头健壮的成虫个体进行雌雄配对,饲养于不锈钢丝养虫笼(尺寸大小:长 × 宽 × 高 = 60 cm × 50 cm × 90 cm)。采集寄主枝条供其补充营养,并在笼中放置粗枝条供其产卵。2 周后,雌成虫陆续产卵。小心剖开枝条树皮,收集虫卵及初孵幼虫。

配制星天牛半人工饲料,填装于玻璃试管,在饲料表面钻一小孔,将虫卵和初孵幼虫投入小孔,采用半人工饲料法饲养幼虫(安榆林等,1994)。每隔 2 周收集幼虫,杀死制成浸渍标本,以供测量,共收集不同龄期的幼虫 108 头。

1.2　形态结构的选择及测量

经过观察不同龄期的星天牛幼虫形态特征,选择 9 项不同骨化程度的形态结构指标作为分龄的标准。这 9 项形态结构分别是:A—上唇基宽度,B—额宽(头壳上触角窝间的最短距离),C—"凸"形宽(位于前胸背板上小微刺组成的形似中文字"凸"的结构),D—上颚长,E—上颚宽,F—触角窝直径,G—前胸气门长,H—前胸气门宽,I—下唇须末节长,然后通过比较分析得出星天牛幼虫最佳的分龄指标。

采用带目镜刻度尺的蔡司 Stemi2000c 体视显微镜测量不同结构的数据。

1.3　数据分析方法

为了便于数据分析,将以微米为单位的测量值转化为 10 的对数值($\log_{10}$)(Johnson and Williamson,2006)。使用 SPSS Statistics17.0 统计分析软件制作频次分布表和频次分布图,计算 A ~ I 的平均值、标准差、变异系数。根据 Dyar 定律和 Crosby 生长法则计算 Brooks 值和 Crosby 值,对分龄数据进行线性回归分析,比较不同的结构数据,从而得到用于星天牛幼虫分龄最理想的一种形态结构(魏书军等,2006)。

Brooks 指数 = X_n/X_{n-1}(X_n 和 X_{n-1} 分别表示 n 龄和 n - 1 龄幼虫各个测量指标的平均值)。

Crosby 指数 = $(b_n - b_{n-1})/b_{n-1}$(b_n 和 b_{n-1} 分别表示第 n 和 n - 1 个 Brooks 指数)。

2　结果与分析

2.1　龄数的确定

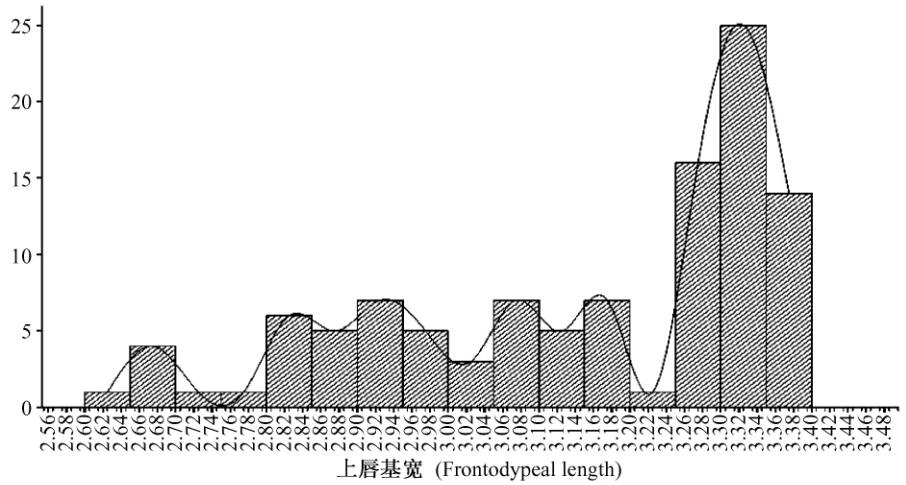
将测量所得的 9 组数据分别输入 SPSS Statistics 17.0 统计分析软件,进行描述统计,在概率模块中制作频次分布图。观察频次分布图,寻找频次集中的区域,一个集中区域代表一个龄期。

从图 1 可知,B、D、E、F 结构出现了相对集中的 5 个频次集中区域,分为 5 龄;A、C、G、H 分为 4 龄;I 分为 3 龄。上述的初步推断将通过 Crosby 指数分析和回归分析来验证其合理性,从而得出最佳的分龄标准。

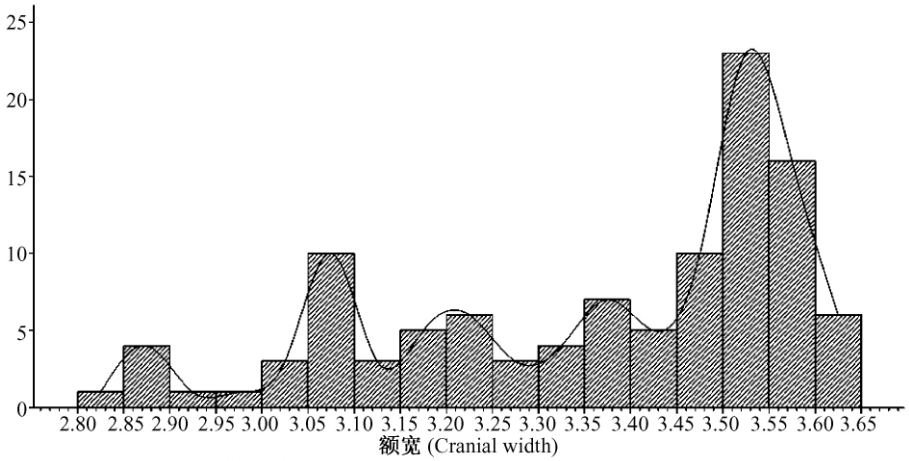
2.2　Crosby 指数分析

针对不同的形态结构数据,依次计算各个龄期的数值变幅、均值、样本数、变异系数以及 Brooks 指数和 Crosby 指数(表 1)。

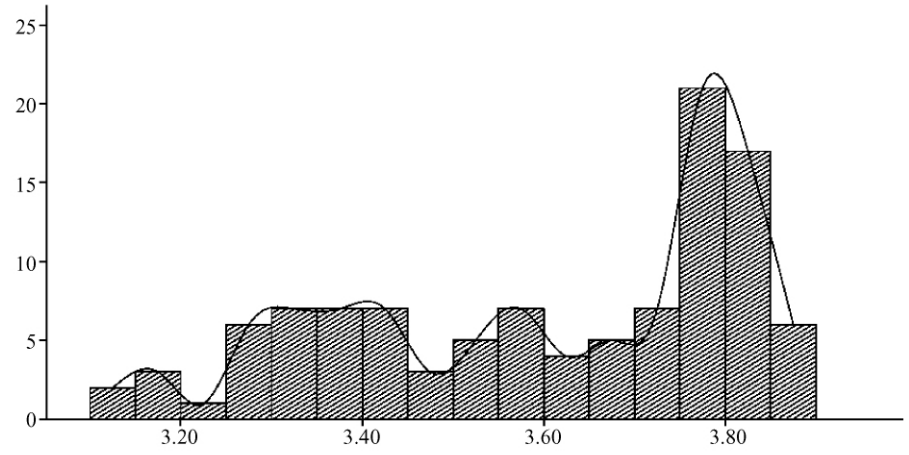
从表 1 可以发现,G 和 H 的 Crosby 指数要显著大于其他结构,因此这 2 种的结构最先予以淘汰。余下的 7 组结构数据在变异系数上没有明显差异,因此利用回归分析,做进一步比较。



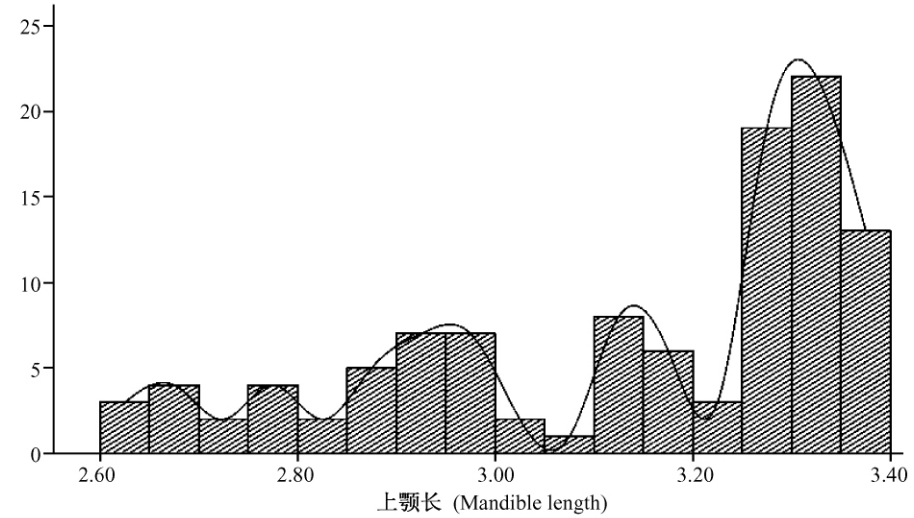
A. 上唇基宽度频次分布　Frequency distribution of frontoclypeal length



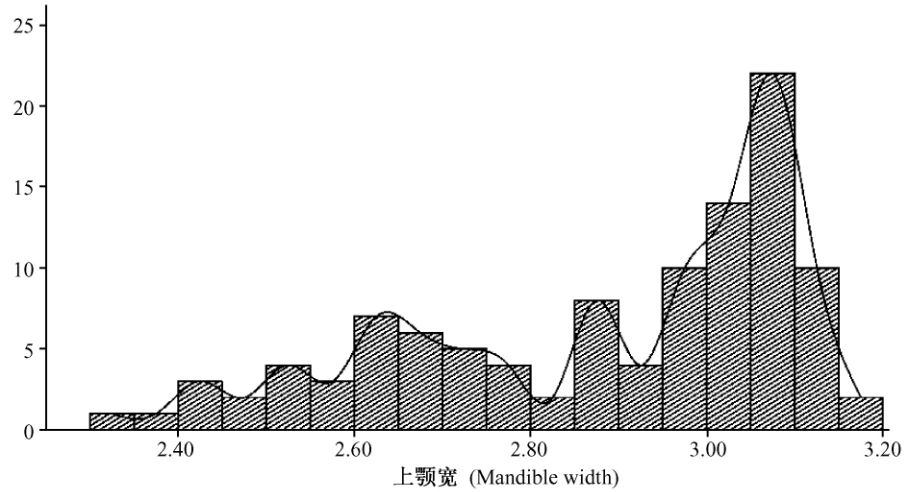
B. 额宽频次分布 Frequency distribution of cranial width



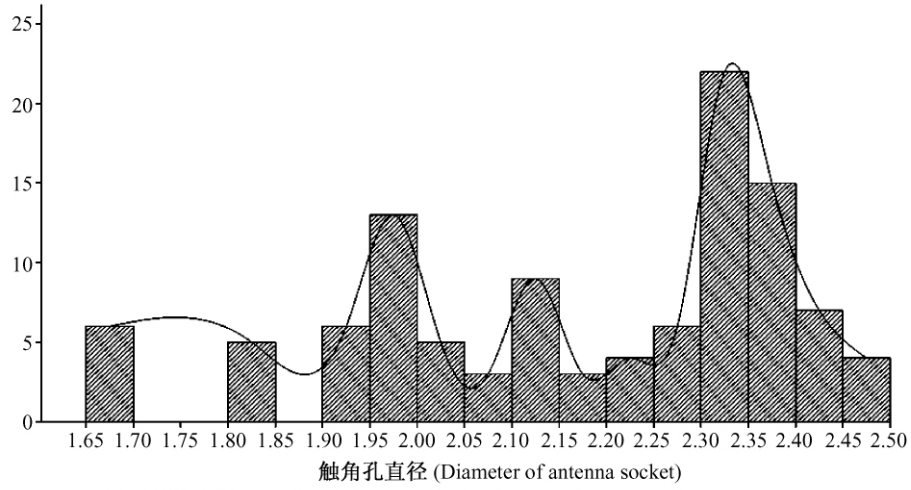
C. “凸”形宽度频次分布 Frequency distribution of microspikes region width



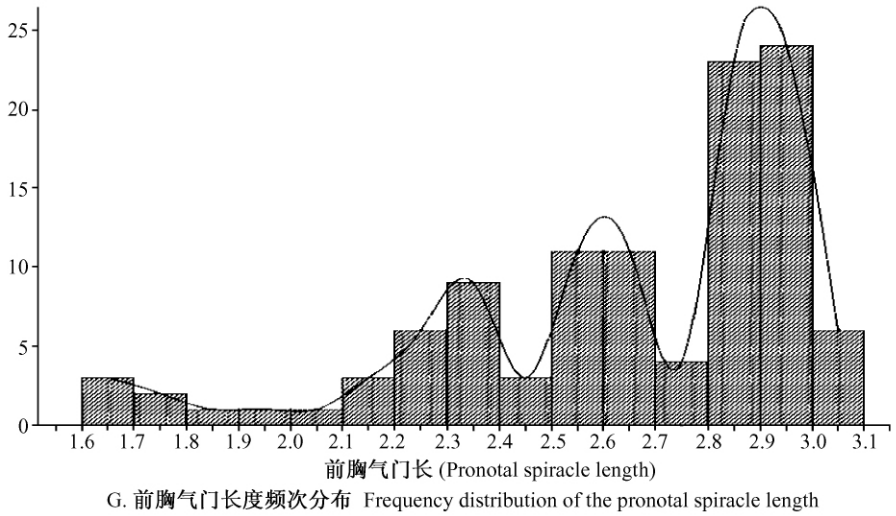
D . 上颚长频次分布 Frequency distribution of mandible length



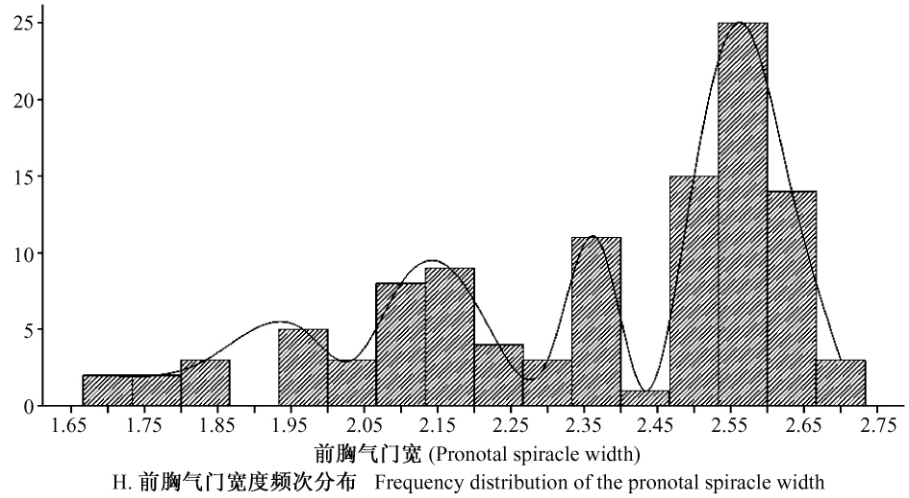
E . 上颚宽频次分布 Frequency distribution of mandible width



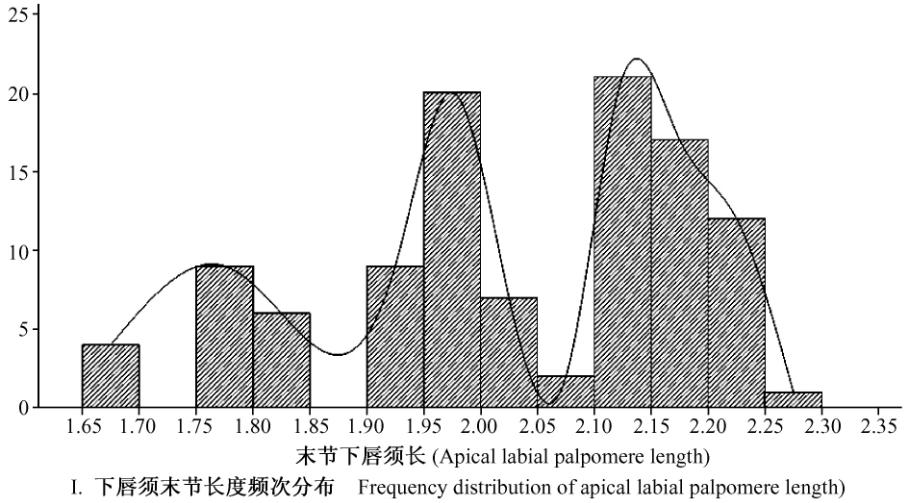
F. 触角窝直径频次分布　Frequency distribution of diameter of natenna socket



G. 前胸气门长度频次分布 Frequency distribution of the pronotal spiracle length



H. 前胸气门宽度频次分布 Frequency distribution of the pronotal spiracle width



I. 下唇须末节长度频次分布 Frequency distribution of apical labial palpomere length)

图 1 星天牛 9 种形态结构测量值频次分布图

Fig. 1 Frenquency histograms of variables used for determining larval instars of *Anoplophora chinensis*

2.3 回归分析

利用 SPSS Statistics 17.0 统计分析软件对每组数据进行线性回归分析。分析表明 9 组数据的测量值的对数值与龄期数都存在着极显著的线性相关，计算回归方程和相关系数见表 2。

从表 2 可以看出，B、D、E 的相关系数超过了 0.950，大于其他 4 组结构测量值的相关系数。其中，上颚长、上颚宽和额宽在频次分布中清晰地出现了 5 个峰，由此可知，将星天牛分为 5 龄更为合理。其中额宽的 Crosby 指数趋于最小，变异系数最小，相关系数最大，因此额宽是最佳的分龄形态结构。其次是上颚长和上颚宽也可作为分龄的辅助和验证指标。

3 讨论

王小艺等(2005)认为白蜡窄吉丁 *Agrilus planipennis* 幼虫的理想分龄指标是尾叉长度和口缘宽度。魏书军等(2006)认为柑橘爆皮虫 *Agrilus aurinentris* 幼虫口上片最大宽度是幼虫分龄的最佳指标。赖开平等(2008)根据头壳宽度将眉斑并脊天牛 *Glenea cantor* 幼虫分为 4 龄。综合上述研究成果，吉丁和天牛幼虫分龄指标往往选择骨化程度较高的形态结构，而且不同种类最佳分龄指标的选择存在一定差异。

表 1　星天牛 9 种形态结构测量值的数据统计结果

Table 1　Measurements and statistics of nine morphological structures of *Anoplophora chinensis*

形态结构 Morphological structures	龄数 Instar	变幅 Class limits	均值 Mean ± *SE*	样本数 Number of samples	变异系数 Coefficient of variation	Brooks 指数 Brooks' ratio	Crosby 指数 Crosbys ratio
A	1	2.6232 ~ 2.7782	2.6850 ± 0.0194a	7	0.0191		
	2	2.8062 ~ 3.0056	2.9078 ± 0.0126b	24	0.0212	1.0830	
	3	3.0414 ~ 3.2095	3.1295 ± 0.0121c	22	0.0181	1.0762	−0.0062
	4	3.2553 ~ 3.3979	3.3199 ± 0.0054d	55	0.0121	1.0608	−0.0143
B	1	2.8451 ~ 2.9777	2.8967 ± 0.0157a	7	0.0144		
	2	3.0212 ~ 3.1235	3.0756 ± 0.0080b	15	0.0101	1.0618	
	3	3.1455 ~ 3.2788	3.2121 ± 0.0100c	15	0.0119	1.0444	−0.0164
	4	3.3010 ~ 3.4393	3.3728 ± 0.0107d	15	0.0123	1.0500	0.0054
	5	3.4492 ~ 3.6335	3.5431 ± 0.0055e	56	0.0117	1.0501	0.0005
C	1	3.1024 ~ 3.2201	3.1665 ± 0.0161a	6	0.0124		
	2	3.2553 ~ 3.4442	3.3526 ± 0.0116b	27	0.0180	0.9445	
	3	3.4861 ~ 3.6435	3.5595 ± 0.0106c	18	0.0127	0.9419	−0.0028
	4	3.6484 ~ 3.8808	3.7821 ± 0.0081d	57	0.0162	0.9411	−0.0008
D	1	2.5315 ~ 2.6990	2.6515 ± 0.0157a	7	0.0156		
	2	2.7482 ~ 2.8261	2.7774 ± 0.0106b	7	0.0101	1.0475	
	3	2.8388 ~ 3.1024	2.9581 ± 0.0144c	25	0.0242	1.0651	0.0168
	4	3.1235 ~ 3.2304	3.1635 ± 0.0083d	14	0.0098	1.0694	0.0041
	5	3.2455 ~ 3.3979	3.3187 ± 0.0056e	55	0.0126	1.0491	−0.0190
E	1	2.3424 ~ 2.4914	2.4220 ± 0.0187a	7	0.0205		
	2	2.5185 ~ 2.6435	2.5900 ± 0.0113b	14	0.0163	1.0693	
	3	2.6721 ~ 2.8195	2.7385 ± 0.0123c	17	0.0184	1.0574	−0.0112
	4	2.8573 ~ 2.9344	2.8911 ± 0.0064d	12	0.0077	1.0557	−0.0015
	5	2.9590 ~ 3.1931	3.0633 ± 0.0067e	58	0.0168	1.0595	0.0036
F	1	1.6990 ~ 1.6990	1.6990 ± 0.0000a	6	0		
	2	1.8451 ~ 1.8451	1.8451 ± 0.0000b	5	0	1.0860	
	3	1.9031 ~ 2.0792	1.9881 ± 0.0112c	27	0.0293	1.0775	−0.0078
	4	2.1139 ~ 2.2788	2.1853 ± 0.0123d	22	0.0265	1.0992	0.0201
	5	2.3010 ~ 2.4771	2.3682 ± 0.0079e	48	0.0231	1.0837	−0.0141
G	1	1.6990 ~ 2.0414	1.9045 ± 0.0325a	8	0.0748		
	2	2.1139 ~ 2.4914	2.1838 ± 0.0171b	21	0.0425	1.2647	
	3	2.5051 ~ 2.7853	2.3778 ± 0.0064c	26	0.0323	1.1394	−0.0991
	4	2.8129 ~ 3.0693	2.5669 ± 0.0072d	53	0.0227	1.1135	−0.0228
H	1	1.6990 ~ 2.0414	1.9045 ± 0.0325a	15	0.0661		
	2	2.0792 ~ 2.3424	2.1838 ± 0.0171b	26	0.0400	1.1466	
	3	2.3617 ~ 2.3979	2.3778 ± 0.0064c	9	0.0080	1.0889	−0.0504
	4	2.4624 ~ 2.7101	2.5669 ± 0.0072d	58	0.0213	1.0795	−0.0086
I	1	1.6990 ~ 1.8451	1.7826 ± 0.0123a	19	0.0300		
	2	1.9031 ~ 2.0792	1.9708 ± 0.0088b	38	0.0274	1.1055	
	3	2.1139 ~ 2.2553	2.1678 ± 0.0050c	51	0.0165	1.1000	−0.0051

注:表中同一指标均值后标有不同字母表示经 LSD 多重比较差异显著($\alpha = 0.05$)。

Data are means ± *SE*, and followed by different letters indicate significantly different at 0.05 level by Fisher LSD test.

表 2 星天牛 9 种形态结构测量值回归方程及相关系数

Table 2 R2 and the linear formula of larval instars and nine morphological structures of *Anoplophora chinensis*

形态结构 Morphological structures	回归方程 Regression equation	相关系数 R^2 Regression coefficient
A	$Y\approx -11.142+4.542X$	0.945
B	$Y\approx -16.494+6.060X$	0.967
C	$Y\approx -12.689+4.400X$	0.930
D	$Y\approx -13.214+7.346X$	0.952
E	$Y\approx -13.358+5.980X$	0.954
F	$Y\approx -7.591+5.300X$	0.934
G	$Y\approx -4.152+2.762X$	0.931
H	$Y\approx -7.225+4.328X$	0.909
I	$Y\approx -7.257+4.705X$	0.910

Dyar 法则揭示了昆虫幼虫的头壳宽度及体长等在相邻龄期间存在着几何级数的关系(王小艺等,2005;Johnson and Williamson,2006;魏书军等,2006;赖开平等,2008)。本研究选取了 9 种形态结构作为比较项目,这些结构都不同程度地存在着骨化,有利于龄期判定。结果表明,额宽、上颚长和上颚宽 3 种结构分龄的可靠性优于其他,这 3 种是 9 种结构中骨化程度相对最高的,其中额宽是最佳结构。这进一步验证了额宽作为天牛科幼虫分龄的优势,骨化程度与天牛科幼虫分龄的可靠度有密切关系。

通过数据分析得出星天牛具有 5 龄,这与实验室观察幼虫的蜕皮次数相一致。对所有的测量值取 10 的对数,其目的是为了减少数据的离差,不影响分析结果的前提下增加数据的一致性,从而便于数据统计分析(Johnson and Williamson,2006)。

本研究所需的星天牛幼虫都是在一致的实验室条件下,采用同一种半人工饲料饲养而得。以往分龄研究所采集的幼虫大都来自野外(王小艺等,2005;Johnson and Williamson,2006;魏书军等,2006;赖开平等,2008),由于受到寄主及环境等复杂外界因素的影响下,幼虫的差异性大,不利于数据统计分析。而相同条件下人工饲养的幼虫在形体方面具有高度的一致性,数据分析结果更为可靠。

触角窝直径得出 3 龄的原因可能是其结构过于微小,在体视镜下测量误差大。上颚长和上颚宽分龄效果不如额宽的原因可能是星天牛上颚弯曲的程度存在着较大的个体差异,造成测量的直线距离不能真正反映上颚的长度。部分形态结构测量值数据分析得出的结果是 4 龄,这可能与雌雄两性在幼虫阶段的差异体现有关,这需要进行羽化后两性观察作为判定依据。

参考文献(References)

安榆林,刁彩华,郑安民,郜明,焦国尧,1994. 进口木材天牛幼虫饲养试验. 植物检疫,8(3):156—159.

陈丽,2008. 星天牛对杨树的危害研究. 安徽农学通报,14(7):185 转 163.

Johnson TA, Williamson C, 2006. Multiple morphological measurements as larval Indicators for *Saperda vestita* (Coleoptera: Cerambycidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 99(5): 938—944.

赖开平,陆温,刘德星,骆峥嵘,高鹏宇,2008. 眉斑并脊天牛幼虫龄数及各龄特征. 昆虫知识,45(1):138—140.

李长林,杨守坤,王大德,2009. 预防星天牛在柑橘等果树上产卵的研究. 北方园艺,9(2): 114.

林燕春,章富忠,张迁西,2009. 星天牛在紫薇上的发生危害观察及其防治技术研究. 中国植保导刊,29(1):25—27.

王小艺,杨忠岐,刘桂军,刘恩山,2005. 白蜡窄吉丁幼虫的龄数和龄期测定. 林业科学,41(3): 97—102.

魏书军,郑宏海,皇甫伟国,施祖华,陈学新,2006. 柑桔爆皮虫幼虫龄期的划分. 昆虫学报,49(2):302—309.

殷玉生,2005. 欧盟对星天牛的建议法规. 中国检验检疫,(3):41.

翟兴礼,杨霞,王东平,2000. 星天牛危害悬铃木习性观察及防治技术. 河南职技师院学报,28(4):91—92.