技术与方法

荒漠昆虫光滑鳖甲(鞘翅目:拟步甲科:鳖甲族)的人工饲养方法*

王 岩** 热西力·克来木 张富春 马 纪***

(新疆大学生命科学与技术学院 新疆生物资源基因工程重点实验室 乌鲁木齐 830046)

摘 要 为了解决深入研究荒漠甲虫环境适应机制时所遇到的各发育阶段试虫材料短缺的问题,本文介绍了饲养拟步甲科鳖甲族昆虫光滑鳖甲 *Anatolica polita* Kaszab 的有效方法。将早春季节在野外采集的成虫饲养在 2 L 的塑料烧杯中,收集卵。用玻璃培养皿孵育卵;用改装的盛有沙土的矿泉水瓶单只饲养 3 龄以上幼虫,以防止幼虫自相残杀。为保持幼虫饲养瓶内的适当湿度,在瓶子底部加入 72 mL 的水,再装入 800 g 沙子,借助毛细现象,形成渐变式含水基质,在最上层的干沙表面加麦麸以饲养幼虫。如需观察计数,可将预蛹、蛹和初孵成虫置于玻璃培养皿中培养。采用此方法饲养的光滑鳖甲可顺利完成生活史,其卵的孵化率为 68.67% ±2.45%,1 ~2 龄幼虫的存活率为 82.95% ±7.72%,3 ~9 龄幼虫的存活率为 73.80% ±4.95%;预蛹、蛹和幼嫩成虫的存活率分别为 84.68% ±2.35%、88.45% ±2.75% 和 90.56% ±4.20%。该方法可以有效实现光滑鳖甲的室内饲养,并可用于其他一些沙栖拟步甲科昆虫的人工饲养。

关键词 拟步甲科, 光滑鳖甲, 饲养方法, 非成熟阶段, 存活率

A method for rearing the desert beetle *Anatolica polita* (Coleoptera: Tenebrionidae: Tentyriini)

WANG Yan** Rexili·Kelaimu ZHANG Fu-Chun MA Ji***

(Xinjiang Key Laboratory of Biological Resources and Genetic Engineering, College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China)

Abstract Insects at different stages of development are often required for research on the mechanisms by which desert insects adapt to their hostile environment. An effective method for rearing the desert beetle *Anatolica polita* Kaszab (Coleoptera: Tenebrionidae: Tentyriini) is described. Adults collected from the field in early spring were reared in plastic beakers (2 L) for breeding and egg collection. Eggs were kept in culture dishes for hatching over several days. Larvae older than the 3rd instar were reared singly in a modified bottle containing desert sand to avoid cannibalism. To keep the humidity in the rearing bottle at an appropriate level, 72 mL of water was added to the bottle followed by 800 g of sand. This created a moisture gradient in the bottle from the top to the bottom. wheat bran was placed on the dry layer of sand in the bottle for larvae to feed on. The prepupae, pupae and teneral adults could also be reared in culture dishes if growth observations or counting were required. This method allowed us to obtain sufficient numbers of all immature stages of *A. polita*. Survival rates were 68.67% ±2.45% for eggs, 82.95% ±7.27% for the 1st—2nd instars and 73.80% ±4.95% for the 3rd—9th instars. The survival rates of prepupae, pupae and teneral adults were 84.68% ±2.35%, 88.45% ±2.75% and 90.56% ±4.20%, respectively. This method can effectively rear *A. polita* as well as several other tenebrionid beetle species that live in desert sand.

Key words Tenebrionidae, *Anatolica polita*, rearing method, immature stage, survival rate

* 资助项目:新疆生物资源基因工程重点实验室开放课题(XJDX0201-2010-05)、新疆大学博士启动基金(BS090129)。

** E-mail:xueshengwangyan@yahoo.cn

*** 通讯作者, E-mail:majiuci@xju.edu.cn

收稿日期:2011-05-23,接受日期:2011-07-19

我国已知荒漠、半荒漠地区拟步甲科昆虫有 5 亚科 25 族 63 属 218 种,其中,中国人记录的仅占 2%,外国人记录的占 98%(任国栋和于有志,1999)。近年来,国内进行新疆拟步甲科昆虫研究的主要有任国栋和于有志(1999)和黄人鑫等(2005),有部分昆虫生物学特性的报道,但更侧重于分类学和区系研究。在荒漠拟步甲科鳖甲族昆虫的饲养方面,由于其幼虫发育历期长,3 龄后又有很强的自相残杀习性,给室内人工饲养工作带来了很大难度。目前,国内外尚没有行之有效并能批量饲养的方法报道。

光滑鳖甲 *Anatolica polita* Kaszab 隶属于拟步甲科鳖甲族鳖甲属,广泛分布于新疆准噶尔盆地、塔里木盆地、东疆诸盆地和内蒙古、甘肃等荒漠地区,属中央亚细亚种(黄人鑫等, 2005),为地面活动性荒漠昆虫。幼虫和成虫常在柽柳(*Tamarix* sp.)、梭梭(*Haloxylon* sp.)等植物根际钻洞为害,以部分荒漠植物的嫩叶、芽等为食,影响沙漠植被。任国栋和叶建华(1993)对同族荒漠昆虫姬兜胸鳖 *Microdera elegans* 的危害作过报道。研究该族昆虫具有重要的生态意义和经济意义。

目前对该昆虫的研究资料主要有成虫的荒漠适应性、跗节结构特征与运动及基质的关系、区系组成和形态描述等(黄人鑫等, 2005)。作者实验室已对荒漠昆虫的抗冻蛋白基因和热休克蛋白基因等开展了大量研究(赵干等, 2005; 吕国栋等, 2006; 陈亮等, 2007; Qiu *et al.*, 2010)。但此前相应的实验昆虫还没有在室内饲养成功。野外采集试虫,研究成本较高,且不易采到卵、幼虫和蛹,制约了对荒漠拟步甲科昆虫的系统研究,亟待建立起可靠的室内饲养体系,以提供充足的试虫来源。

地栖昆虫幼虫的生长容易受到土壤湿度、食料、病原微生物的影响(王容燕等, 2007),而光滑鳖甲幼虫间还具有很强的残杀习性,这给饲养工作带来了一定的难度。本研究根据荒漠甲虫的生物学特性,通过近 2 年的实践摸索,设计了一种以细沙为饲养基质,适用于拟步甲科鳖甲族沙栖幼虫的饲养装置,并总结出一套观察预蛹和蛹的方法,有效地解决了该昆虫的饲养问题。为其荒漠适应性等研究奠定了基础。

1　材料与方法

1.1　试虫来源

光滑鳖甲成虫采自新疆五家渠市 103 团北沙窝,采样地点位于古尔班通古特沙漠边缘地带(N44°29′, E87°31′, 410 m)。

1.2　养虫器具设计

利用 600 mL 塑料矿泉水瓶(d = 6 cm, h = 23 cm)进行改造。在距瓶口约 3.5 cm 处做环形切割,形成直径约 4 cm 的瓶口,改造后的广口瓶有利于操作并可防止甲虫逃脱(图 1:A ~ C)。使用前,将广口瓶浸泡于碘伏消毒液(0.05%)中 2 h,然后用蒸馏水漂洗 3 ~ 4 次,晾干后称重标记,备用。

取野外采集的细沙,过 30 目细筛,置烘箱内

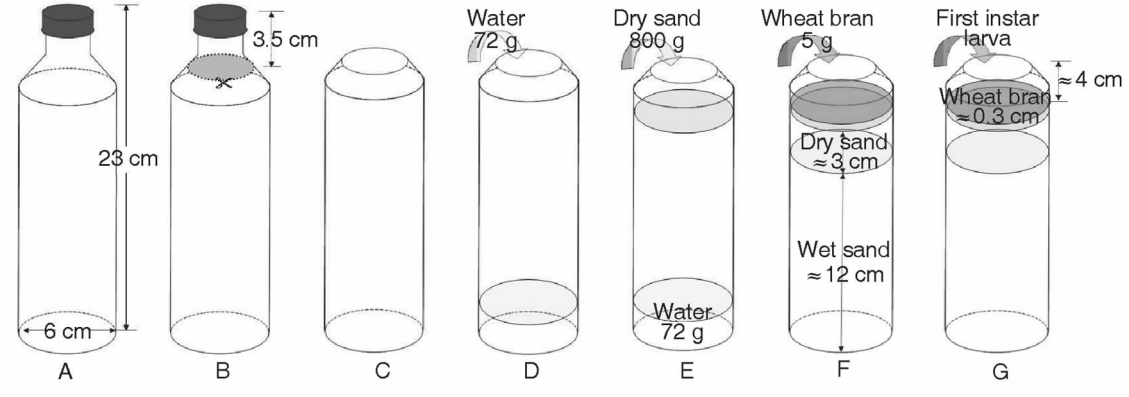

图 1　养虫器具的制作过程

Fig. 1　Schematic diagram for setting up the rearing bottle

. 剪去瓶口 removal of the top part of the plastic bottle; D. 加入水 adding 72 g water; E. 加入干沙 adding 800 g sand; 加入饲料 putting in about 5 g dry wheat brans on the sand surface; G. 加入幼虫 putting in the newly hatched larvae.

200℃烘 12 h,或常规高压灭菌(119℃, 20 min),冷却后备用。在瓶底加入 72 mL 水,再加入 800 g 细沙,沙面距瓶口约 4 cm(图 1:D,E)。水借助毛细作用向上迁移,自下而上形成不同的含水梯度。上层为干沙层,厚约 3 cm;下层为湿沙层,厚约 12 cm(图 1:F)。在干沙面上放入麦麸 5 g 和新孵化的幼虫(图 1:G)。最后称量饲养装置的总重量,标于瓶壁上(以便及时量化补水),并标明饲养起始日期和幼虫头数。

1.3 成虫的饲养与卵的收集

经高温处理过的细沙,铺于 2 L 的塑料烧杯底部约 8 cm 厚,将野外新采集的成虫置于其中,放在 GXZ-260B 型智能培养箱中,在(30 ± 1)℃、RH40% ±10%、L∶D =16∶8、光照 6 级(2 000 lx)的条件下饲养,施予人工饲料(配方为麦麸 100 g,豆粉 100 g, 玉米粉 100 g, 水 130 g, 100℃烘干,切成 1 cm^3 块状)和新鲜卷心菜(20 g, 隔天更换 1 次)。任其自由配对产卵。每天 23:00 先将食料和昆虫取出,过 30 目细筛,用羽毛收集卵,置培养皿(d =15 cm)中备用。

1.4 卵的孵化和幼虫的收集

将含有卵的培养皿置于室温自然光周期和湿度条件下,观察卵的孵化情况,记录孵化率。

收集幼虫时,将 30 目圆筛子置于 60 目筛子上,把混有孵化幼虫的卵倒在 30 目筛子上,利用幼虫的负趋光性和重力作用,任其自由通过 30 目筛孔爬落到 60 目筛面上。将筛子反扣在干净的黑色光滑纸面上,震落幼虫,用羽毛将幼虫轻轻扫入培养皿中,计数备用。在孵化的后期,幼虫数量较少时,用羽毛蘸少量水甩去浮水后,轻轻粘起幼虫,抖落到培养皿中。

1.5 幼虫的饲养与观察

新孵化幼虫可暂时混养。由于 3 龄以后幼虫表现很强的自相残杀习性,宜将单只放入养虫器中,任其钻入沙中,在干沙面上放入麦麸 5 g(直至幼虫化蛹,一般不需要更换饲料)。将养虫器置于智能培养箱中,在(30 ±1)℃、RH40% ±10%、L∶D =16∶8、2 000 lx 光强条件下饲养,统计成活率。可通过透明瓶壁从侧面和顶端观察幼虫活动。详细观测虫体时,先用小勺将饲料刮入纸杯中,再将部分干沙倒入另一纸杯,剩余物过 30 目细筛,筛出幼虫(若幼虫在上层可直接用羽毛取出)。观测完毕后,将沙子、食料、幼虫依次倒回,防止食料接触湿沙而霉变。

幼虫一般在干湿沙交界处活动,昼伏夜出,晚上 23:00 至次日 2:00 较为活跃,蜕皮一般在干沙层表面进行。若发现湿土层厚度少于 5 cm 时(一般 3 周后),及时称量饲养装置的总重量,用蒸馏水补足与瓶上标记所差重量。补水时,先用 50 mL 注射器针头在距瓶底 1 cm 处刺个小孔,再用注射器吸足所差水量,从小孔中注入。注入水后,擦干瓶壁,用塑料透明胶带将注水孔处密封。

1.6 预蛹和蛹的收集与羽化

末龄幼虫钻入干湿沙层交界面下 1 ~3 cm 处做蛹室,蛹室为椭圆形,经过 7 d 左右预蛹期后,经历最后 1 次蜕皮、化蛹。蛹一般需经过 10 d 左右在蛹室内羽化,故可在蛹室内同时发现末龄幼虫的蜕皮、蛹壳和初羽化的成虫。羽化后的成虫变为深褐色后爬出蛹室。饲养过程中应尽量减少惊动,以免影响蛹的羽化率。

若要观察预蛹和蛹的发育历期,参照上述收取幼虫的方法,获取观察所需预蛹和蛹并置于玻璃培养皿中,在培养皿中放置一个含湿润棉团的水瓶盖。将培养皿置于培养箱中,统计预蛹和蛹的成活率。

1.7 数据统计与分析

饲养试验重复 3 次,汇总各次实验的数据。实验数据用 GraphPad Prism 4 进行统计分析。

2 结果与分析

通过本研究所介绍的方法饲养光滑鳖甲,在实验室控制的条件下能连续获得不同发育时期的虫态(图 2),第 2 代成虫亦可产卵并完成其生活史。卵的孵化率为 65.88% ~70.41%,发育历期为 7 ~8 d; 1 ~2 龄幼虫(混合饲养)的存活率为 76.11% ~90.58%,发育历期为 7 ~8 d;3 龄至末龄幼虫单瓶饲养,为减少翻动观察造成幼虫损伤,未按龄期分别统计各龄的存活率,3 龄至末龄幼虫总的存活率为 68.89% ~78.79%。预蛹的存活率为 82.61% ~87.23%,发育历期为 6 ~8 d;蛹的羽化率为 82.35% ~90.48%,发育历期为 10 ~11 d;初孵成虫的存活率为 85.71% ~93.10%,发育历期为 22 ~28 d。不同虫态(龄)的发育历期及饲养成活率见表 1。

表 1　光滑鳖甲不同虫态或虫龄的发育历期和饲养存活率

Table 1　Developmental duration and survival rate of the immature stages of *Anatolica polita*

供试虫态(龄) Insect stage (instar)	样本量 Sample size (n)	发育历期(d) Developmental duration(day)	存活率(%) Survival rate (%)
卵 Egg	4 402	7.82 ± 0.40	68.67 ± 2.45
1 龄 1st instar	163	3.00 ± 0.63	NC
2 龄 2nd instar	79	4.00 ± 0.63	1—2 龄 82.95 ± 7.27
3 龄 3rd instar	62	5.33 ± 1.03	NC
4 龄 4th instar	26	5.75 ± 0.951	NC
5 龄 5th instar	26	6.86 ± 1.48	NC
6 龄 6th instar	24	8.37 ± 1.71	NC
7 龄 7th instar	21	8.76 ± 1.09	NC
8 龄 8th instar	21	10.19 ± 2.04	NC
9 龄 9th instar	21	20.76 ± 5.28	3—9 龄 73.80 ± 4.95
预蛹 Prepupa	108	6.95 ± 0.50	84.68 ± 2.35
蛹 Pupa	104	10.24 ± 0.44	88.45 ± 2.75
初孵成虫* Teneral adult	92	25.00 ± 2.24	90.56 ± 4.20

注:NC:表示未统计;数据为平均值 ± 标准差;* 表示初孵成虫统计至体色变黑。

NC:not counting. Values are mean ± SD. * indicates that teneral adults are counted until their body color turned into black.

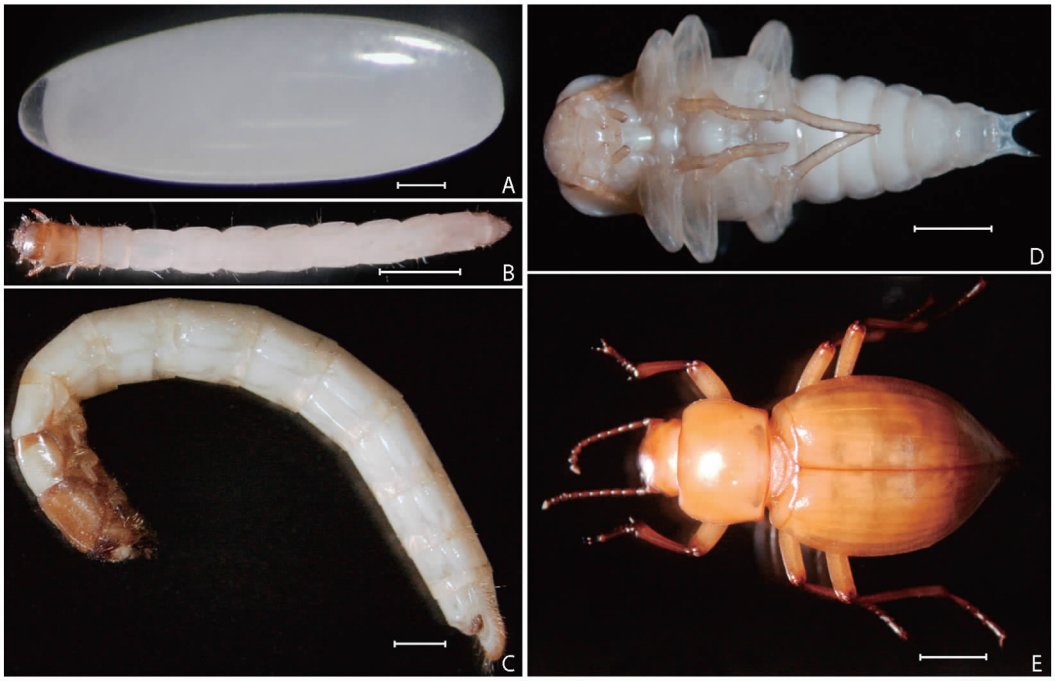

图 2　光滑鳖甲的各期虫态

Fig. 2　Morphologies of *Anatolica polita* at different stages

A. 卵 egg;B. 幼虫 larva;C. 预蛹 prepupa;D. 蛹 pupa;E. 新羽化成虫 teneral adult.

标尺在 A 中为 0.20 mm;在 B ~ E 中为 2.00 mm。

Scale bars, A: 0.2 mm; B – E: 2 mm.

3 讨论

对荒漠昆虫生态适应性的系统研究,需要有充足的试虫来源和饲养种群。对沙栖拟步甲昆虫的饲养,主要是饲养容器的选择以及沙土湿度的保持问题。文献报道饲养拟步甲科昆虫可用大洗衣盆(张大治等, 2003)、玻璃瓶罐桶(任国栋和于有志, 1999)等方法,但我们用上述方法饲养昆虫的成活率都很低(<1%)。我们前期还筛选过不同的饲养容器,比如一次性纸杯、培养皿、各种型号的花盆、脸盆等,这些器具都不及矿泉水瓶改装的饲养瓶具有加水频率低、麦麸霉变率低,幼虫成活率高等优点。与已报道的饲养容器相比,用改装的矿泉水瓶饲养荒漠鳖甲族昆虫,具有占地面积小、成本低、高效、方便的优点。

该方法主要在以下几个方面体现优势:(1)可通过调整瓶口的大小控制水分蒸发,一般 3 周内不用加水;此外,可量化补水,并形成适宜的含水梯度,使昆虫通过调整自身的钻沙深度,找到合适的栖身环境;(2)可有效避免幼虫的自相残杀。透明瓶壁便于观察虫体活动和基质干湿情况;(3)收缩的瓶口可防止虫子脱逃;(4) 该方法使基质的湿度接近于昆虫的野外环境状态,有利于研究其行为和发育特点,可用于幼虫的安全越冬;(5)矿泉水瓶可循环使用,实现了废物利用,利于环保。

饲养时,可直接将卵放在饲养瓶中孵化,孵化率高于 80% (n >100)。如果需分离收集幼虫,观察计数生长情况,可将筛出的卵直接放在培养皿中孵化,孵化率不受影响。光滑鳖甲幼虫通过取食麦麸便可正常发育。我们曾尝试将大龄幼虫单只放入灭菌的含有人工饲料(麦麸 100 g、豆粉 100 g、玉米粉 300 g、酵母粉 100 g、VB0.9 g、Vc3 g、柠檬酸 1.5 g、红霉素 0.1 g、山梨酸钾 2 g、水 218 g)的玻璃组培瓶中,幼虫可部分化蛹,但成活率较低(<10% , n > 50)。配制人工饲料成本高、易霉变。饲养过程中,若将饲料拌入基质中会增加霉菌生长概率,增加换土频率(赵莉和刘芳政, 1989),将饲料放在干沙层上,可解决加水与饲料霉变的矛盾。

在饲养过程中如何保持土壤含水量的相对稳定,对减少昆虫死亡率至关重要(赵莉和刘芳政, 1989; Bailez *et al.*, 2003)。我们也发现控制沙土湿度对卵、各期幼虫和蛹的成活率有较大影响。基质缺水时,卵的孵化率较低。表 1 中,预蛹和蛹的成活率较高,与此阶段补充水份控制湿度有一定关系。幼虫期成活率相对较低,可能与其发育历期长,并且在筛沙取虫统计成活率时被拨弄损伤有关。昆虫在蜕皮、化蛹和羽化过程中,受碰触最易致伤甚至死亡,若无需统计孵化率,最好让卵在饲养瓶中直接发育至成虫。

在饲养过程中应当注意以下几个细节:(1)若发现幼虫虫体消瘦,不停地在沙表面试图外爬,则可能基质含水不足,宜及时补足水分。(2)放在表面的人工饲料宜保持干燥,蔬菜需洗净晾干后投放。(3)饲养过程中,尤其在夏天,人工饲料容易滋生印度谷螟 *Plodia interpunctella*,其丝状分泌物可粘附卵和低龄幼虫,使幼虫无法正常运动而死亡,应及时清除并更换新饲料。对于长霉菌的饲料应连同基质高压灭菌后丢弃。(4) 补水宜少量多次,可减少霉菌生长概率。在大规模饲养补水时,可在瓶底扎针孔,再将饲养瓶直接放在含有合适水量的培养皿或塑料盘上,使其借助毛细现象吸水,但要控制加水量或吸水时间,使得基质含水量不超过其质量的 10% 。

本方法不只适用于光滑鳖甲,还可应用于荒漠鳖甲族的其他昆虫,甚至其他的沙栖拟步甲科昆虫。利用此方法我们已成功地饲养了大小鳖甲 *Microdera gigas*、中华齿刺甲 *Oodescelis chinensis* 和卵刺甲 *Platyscelis obvatus* 的蛹和成虫。利用此方法饲养卵刺甲,在室温条件下一年即可完成一代,不同于张晶晶等(2009)研究的 3 年才能完成一代。我们希望这种饲养方法能广泛应用于其他土栖昆虫的饲养,从而为生物学特性和害虫防治等研究提供方法支持。

致谢:感谢黄人鑫教授鉴定昆虫;本院唐馨、张大燕、陈玲、张学涛和李芬等同学,在筛卵和幼虫饲养过程中给予了部分帮助,谨此一并致谢!

参考文献(References)

Bailez OE, Viana-Bailez AM, de Lima JOG, Moreira DDO, 2003. Life-history of the guava weevil, *Conotrachelus psidii* Marshall (Coleoptera: Curculionidae), under laboratory conditions. *Neotrop. Entomol.*, 32(2):203—207.

Qiu LM, Ma J, Wang J, Zhang FC, Wang Y, 2010. Thermal stability properties of an antifreeze protein from the desert

beetle *Microdera punctipennis*. *Cryobiology*, 60(2):192—197.

陈亮,张富春,黄萍,马纪,2007. 光滑鳖甲热休克蛋白 70 基因的克隆及表达. 昆虫学报, 50(9):883—888.

黄人鑫,吴卫,毛新芳,胡红英,范兆田,侯彦君,李新平,杜春华,邵红光,黄祥,欧阳彤,2005. 新疆荒漠昆虫区系及其行程与演变. 新疆乌鲁木齐:新疆科学技术出版社. 36—46.

吕国栋,孙洁,马纪,张富春,2006. 准噶尔小胸鳖甲抗冻蛋白 MPAFP5 毕赤酵母表达产物的理化性质. 昆虫知识, 43(6):821—826.

任国栋,叶建华,1993. 姬兜胸鳖甲生物学记述. 植物保护, 16(3):15—16.

任国栋,于有志, 1999. 中国荒漠半荒漠的拟步甲科昆虫. 保定:河北大学出版社. 6—13.

王容燕,王金耀,宋健,曹伟平,杜立新,冯书亮,宋福平,张杰,2007. 铜绿丽金龟的室内人工饲养. 昆虫学报, 50(1):20—24.

张大治,张峰举,于有志,2003. 六种拟步甲行为初探. 宁夏大学学报(自然科学版), 24(1):94—96.

张晶晶,都晔军,胡红英,2009. 卵形刺甲的生物学和人工饲养. 昆虫知识, 46(4):636—640.

赵干,马纪,薛娜,杨长庚,专芳芳,张富春,2005. 新疆准噶尔小胸鳖甲抗冻蛋白基因的克隆和抗冻活性分析. 昆虫学报, 48(5):667—673.

赵莉,刘芳政,1989. 亮柔伪步甲室内饲养方法. 八一农学院学报, 12(2):76—78.