应用昆虫学报 *Chinese Journal of Applied Entomology* 2013,50(5):1484 - 1488. DOI:10.7679/j.issn.2095 - 1353.2013.204

一种快速鉴别亚洲玉米螟蛹雌雄的方法*

张 军[1,2]** 杜 茜[1,2] 王振营[3] 李启云[1,2]*** 汪洋洲[1,2,3]***

(1.吉林省农业科学院植物保护研究所 公主岭 136100;2.农业部东北作物有害生物综合治理重点实验室 公主岭 136100;3.中国农业科学院植物保护研究所 北京 100193)

摘 要 报道了一种采用体视镜和三维显微镜对亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* (Guenée)蛹雌雄进行外部形态学观察,快速准确通过外部形态特征区分玉米螟蛹雌雄的方法。结果表明,雌蛹生殖孔与产卵孔连接成1条短裂缝且都位于第8腹节,生殖孔与第7腹节后缘相连;雄蛹生殖孔位于第9腹节,距离第7腹节后缘约390 μm。根据羽化后成虫鉴定结果,此方法鉴定准确率为100%。

关键词 亚洲玉米螟, 蛹, 雌雄, 鉴别

A method for the rapid sex-determination of pupae of the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis*

ZHANG Jun[1,2]** DU Qian[1,2] WANG Zhen-Ying[3] LI Qi-Yun[1,2]***
WANG Yang-Zhou[1,2,3]***

(1. Institute of Plant Protection, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100, China; 2. Key Laboratory of Integrated Pest Management on Crops in Northeast, Ministry of Agriculture, Gongzhuling 136100, China; 3. Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract A rapid, simple and accurate method is developed for distinguishing sex in the pupae of Asian corn borer. The external morphology of pupae was studied using a stereoscope and 3D imaging system. The genital pore and oviposition hole of the female pupa were found to be located on the eighth abdominal segment and attached to the posterior margin of the seventh abdominal segment. The genital pore of the male pupa was located on the ninth abdominal segment. The average distance from the genital pore of the male pupa to the posterior margin of the seventh abdominal segment was about 390 μm. Observing the sex of the adults that emerged from pupae sexed by this method confirmed it to be 100% accurate.

Key words *Ostrinia furnacalis*, pupa, sex, identification

亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* (Guenée)属鳞翅目、草螟蛾科,是我国玉米上最重要的害虫,严重影响玉米的品质和产量(王振营等,2000)。在进行亚洲玉米螟生物学(文丽萍等,2000;Fujiii *et al.*,2011)、进化(赵新成和王琛柱,2006;Allen,2010)、杂交(Domingue *et al.*,2008,2010)、生化(Guo *et al.*,2010;Miura *et al.*,2010)及杀虫功能基因克隆与表达(Lassance *et al.*,2010;Zhang *et al.*,2011;Xue *et al.*,2012)等研究中均需要进行雌雄鉴别。

亚洲玉米螟幼虫雌雄的鉴别方法曾被报道过,通过观察幼虫第9腹节外体壁内的成虫生殖附器原基赫氏腺(Herold's gland)的体外透视部分将雄虫区分出来(赵刚和朱海清,1988)。我们利用三维显微镜对此特征进行了形态学观察,该特征区域有菱形黑斑为雄性幼虫(图1箭头所指位置),无此特征为雌性幼虫(图1)。此区分方法仅限4龄及5龄幼虫雌雄区分,4龄以下幼虫无此特征(赵刚和朱海清,1988)。由于玉米螟幼虫活动力强,该方法不适合活体幼虫的快速镜检,应用有

* 资助项目:吉林省玉米产业技术体系项目(201203-1);吉林省农业微生物研究与利用研究创新团队(20121812)。

** E-mail:zhangjun5155232@163.com

*** 通讯作者,E-mail:qyli@cjaas.com,wang_yangzhou@163.com

收稿日期:2012-09-28,接受日期:2013-03-10

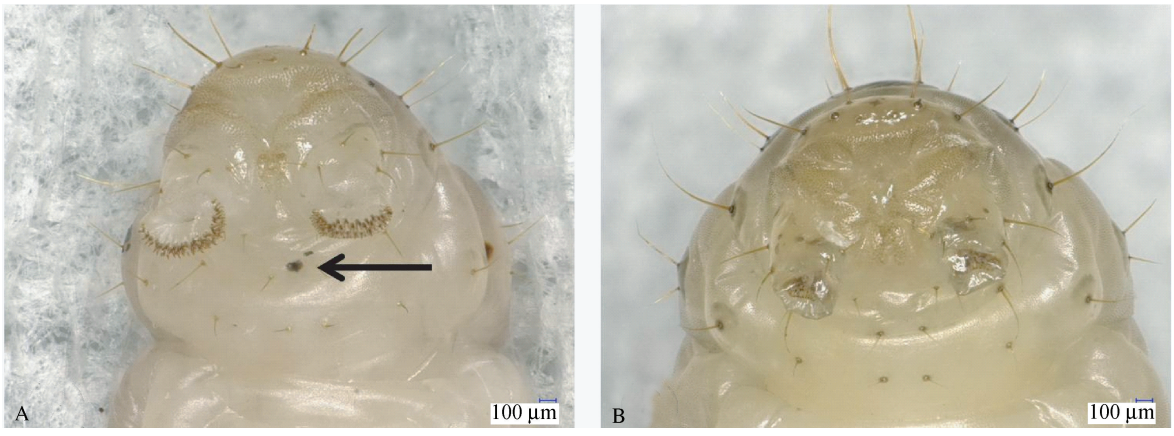

图 1　亚洲玉米螟雌雄幼虫腹部末端

Fig. 1　The apical parts of the Asian corn borer larval abdomen

A: 雄性幼虫 male larva; B: 雌性幼虫 female larva.

一定的局限性。

亚洲玉米螟成虫体长 10 ~ 13 mm,翅展 20 ~ 30 mm。雄蛾前翅黄褐色,后翅灰褐色;雌蛾形态与雄蛾相似,色较浅,前翅鲜黄,后翅淡黄褐色,腹部较肥胖。雌雄成虫前翅颜色差异明显(图 2)。雄蛾的腹部末端略尖,抱握器位于末端两竖状排毛从之下;雌蛾腹部末端钝圆,产卵孔位于箭头所指位置(图 2)。

鳞翅目蛹的雌雄鉴别大多以生殖孔作为分类特征(邵淑霞等,2008;陈增良等,2010;马继芳等,2011;赵琦等,2011)。还有根据其它特征分类的方法,如蛹的斑点等(宣家发等,1996;陈艺欣等,2011)。但是由于种间差异的存在,这些特征尽管相似,但是还是存在种的特异性(Genc,2005;李德

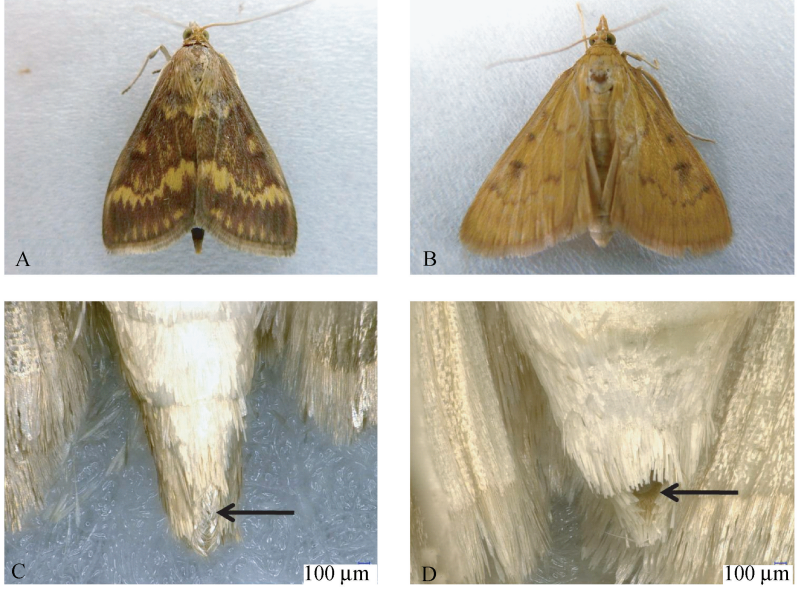

图 2　亚洲玉米螟雌雄成虫及腹部末端

Fig. 2　Female and male ad　ult and the end of the abdomen

A: 雄蛾 male moth; B: 雌蛾 female moth; C: 雄蛾腹部末端 the abdomen of male moth; D: 雌蛾腹部末端 the abdomen of female moth.

伟等,2008;Fuková *et al.* ,2009;陈增良等,2010)。蛹期是鳞翅目昆虫活动能力相对较弱的虫态,坚固的体壁也会减少操作时带来的伤害,迅速而准确的鉴别蛹的雌雄,将提高实验效率。有些研究涉及基于亚洲玉米螟和欧洲玉米螟 *O. nubilalis* (Hübner)蛹的雌雄鉴别,但是没有报道具体区分方法(周大荣等,1988;文丽萍等,2000;Andreadis *et al.* ,2008;涂小云等,2011;Zhang *et al.* ,2011)。

亚洲玉米螟蛹在第 7 腹节之后分节不明显,雌雄蛹生殖孔形态和位置都不明确。本研究通过体视镜和三维显微镜观察,明确了生殖孔所在位置与形态,量化了雄蛹生殖孔到第 7 腹节后缘的距离,确定了一种快速区分性别方法。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

亚洲玉米螟越冬幼虫于 2011 年 11 月采自吉林省公主岭市。

1.2 实验方法

1.2.1 亚洲玉米螟越冬幼虫解滞育 亚洲玉米螟越冬幼虫单头单管装在 1.5 mL 离心管中,2011 年 11 月 25 日置于 4℃ 的冰箱中低温处理。2012 年 2 月 21 日将离心管移入养虫室,摆放于养虫架。养虫室温度 24 ~ 28℃,光照周期(L: D = 16: 8),相对湿度 50% ~ 80%。每天检查化蛹情况。

1.2.2 蛹特征拍摄 采用基恩士 VHX-1000 超景深三维显微镜拍摄雌雄蛹第 7 腹节至末端图片和雌蛾雄蛾腹部末端图片。采用松下 DMC-ZS7 相机拍摄雌蛾雄蛾整体图片。利用基恩士 VHX-1000 超景深三维显微镜的测量功能测量雄蛹生殖孔与第 7 腹节距离。

1.2.3 亚洲玉米螟蛹雌雄鉴别 每天将新化的蛹在体视显微镜(上海长方光学仪器有限公司,XTL-240)按照形态特征区分雌雄后,标注化蛹日期及雌雄。

取亚洲玉米螟雌雄蛹各 20 头,按蛹的性别分别装入 2 个直径 5 cm、高 10 cm 塑料养虫瓶内,瓶底用棉球保湿。养虫瓶放在养虫室内,养虫室条件同 1.2.1。每天检查养虫瓶中成虫羽化情况,根据羽化成虫的形态特征及成虫腹部末端形态进一步鉴别雌雄。

2 结果与分析

亚洲玉米螟蛹雌雄鉴别 亚洲玉米螟雌蛹的生殖孔和产卵孔位于第 8 腹节,相连成 1 深褐色短裂缝,不凸起或略微凸起,生殖孔与第 7 腹节后缘相连;雄蛹的生殖孔位为半圆形瘤状突起,位于第 9 腹节,与第 7 腹节后缘距离为(394.04 ± 15.78) μm (n = 21)。根据这些显著特征就可以分别鉴别蛹的雌雄(图 3)。2 个养虫瓶中羽化的成虫根据外部形态特征及成虫腹部末端生殖器鉴别,雌雄蛹的鉴别准确率都为 100%。

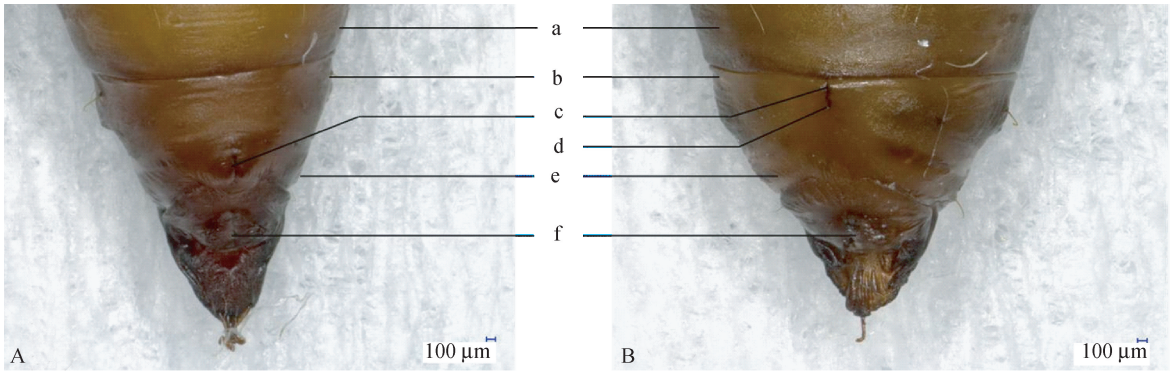

图 3 雌雄蛹腹部末端

Fig. 3 The apical parts of the pupal abdomen

A:雄蛹 male pupa; B:雌蛹 female pupa.

a: 第 7 腹节 the 7th abdominal segment; b: 第 8 腹节 the 8th abdominal segment; c: 生殖孔 gonopore; d: 产卵孔 oviposition hole; e: 第 9 腹节 the 9th abdominal segment; f: 肛门 anus.

3　讨论

亚洲玉米螟越冬幼虫滞育解除实验中,为了避免羽化雌雄成虫交尾,幼虫所化的蛹大多以单管单头放入玻璃试管中羽化,操作繁琐,工作量大(文丽萍等,2000)。亚洲玉米螟成虫羽化后时需要展翅,由于玻璃管空间有限,还会限制成虫翅的展开,造成翅畸形,影响后续交配效率。迅速、准确地鉴别亚洲玉米螟蛹的雌雄可以有效解决这些问题。

玉米螟的雌性的生殖孔与产卵孔相连成一条纵裂缝,且都位于第 8 腹节,不是倒"Y"形,裂缝边缘比二点委夜蛾 *Athelis lepigone* (Moschler)(马继芳等, 2011)、桐花树毛颚小卷蛾 *Lasiognatha cellifera* (Meyrick)(李德伟等,2008)、旋幽夜蛾 *Scotogramma trifolii*(Rottemberg)(赵琦等,2011)和小菜蛾 *Plutella xylostella* (Linnaeus)(陈艺欣等,2011)的裂缝平坦。

目前已报道的鳞翅目的蛹的雌雄鉴别也具有共同特点。雄蛹第 9 腹节腹面生殖孔两侧均呈半圆形瘤状突起,且生殖孔与第 7 腹节距离较长。雌蛹生殖孔一般与第 7 腹节后缘相切或者接近,例如 *Phyciodes phaon* (Edwards)(Genc,2005)、苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* (Linnaeus)(Fuková *et al.*, 2009)等。

亚洲玉米螟蛹的雌雄的快速鉴别,既可提前在蛹期了解玉米螟在田间的性比,利于开展预测预报工作,为防治措施提供依据;又可为探讨玉米螟化学通讯、功能基因组等领域提供快捷取样手段,保证研究顺利实施。

参考文献(References)

Allen JE, 2010. Evolution of the molecular mechanisms of pheromone reception in European and Asian corn borer moths. Master's degree thesis. Montana State University: Bozeman, Montana.

Andreadis SS, Vryzas Z, Euphemia PM, Matilda SS, 2008. Age-dependent changes in tolerance to cold and accumulation of cryoprotectants in overwintering and non-overwintering larvae of European corn borer *Ostrinia nubilalis*. *Physiol. Entomol.*, 33 (4):365 – 371.

Domingue MJ, Musto CJ, Linn Jr CE, Roelofs WL, Baker TC, 2008. Olfactory neuron responsiveness and pheromone blend preference in hybrids between *Ostrinia furnacalis* and *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). *J. Insect Physiol.*, 54 (8):1261 – 1270.

Domingue MJ, Musto CJ, Linn Jr CE, Roelofs WL, Baker TC, 2010. Homology of olfactory receptor neuron response characteristics inferred from hybrids between Asian and European corn borer moths (Lepidoptera: Crambidae). *J. Insect Physiol.*, 56 (1):73 – 80.

Fujii T, Ito K, Tatematsu M, Shimada T, Katsuma S, Ishikawa Y, 2011. Sex pheromone desaturase functioning in a primitive *Ostrinia* moth is cryptically conserved in congeners' genomes. *PNAS*, 108 (17):7102 – 7106.

Fuková I, Neven LG,, Búrcenas NM, Gund NA, Dalíková M, Marec F, 2009. Rapid assessment of the sex of codling moth *Cydia pomonella* (Linnaeus) (Lepidoptera: Tortricidae) eggs and larvae. *J. Appl. Entomol.*, 133(4): 249 – 261.

Genc H, 2005. Determination of sex in pupae of *Phyciodes phaon* (Lepidoptera: Nymphalidae). *Florida Entomol.*, 88 (4):536 – 537.

Guo L, Zeng XY, Wang DY, Lia GQ, 2010. Methanol metabolism in the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis* (Guenée) (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Insect Physiol.*, 56 (3):260 – 265.

Lassance JM, Groot AT, Liénard MA, Antony B, Borgwardt C, Andersson F, Hedenström E, Heckel DG, Löfstedt C, 2010. Allelic variation in a fatty-acyl reductase gene causes divergence in moth sex pheromones. *Nature*, 466 (7305): 486 – 489.

Miura N, Tatsuro N, Touhara K, Ishikawa Y, 2010. Broadly and narrowly tuned odorant receptors are involved in female sex pheromone reception in *Ostrinia* moths. *Insect Biochem. Mol.*, 40 (1):64 – 73.

Xue B, Rooney AP, Roelofs WL, 2012. Genome-wide screening and transcriptional profile analysis of desaturase genes in the European corn borer moth. *Insect Sci.*, 19 (1):55 – 63.

Zhang YL, Kulye M, Yang FS, Xiao L, Zhang YT, Zeng HM, Wang JH, and Liu ZX, 2011. Identification, characterization, and expression of a novel P450 gene encoding CYP6AE25 from the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis*. *J. Insect Sci.*, 11 (37):1536 – 2442.

陈艺欣, 田厚军, 魏辉, 占志雄, 黄玉清, 2011. 小菜蛾幼虫、蛹和成虫的雌雄形态识别. 福建农业学报, 26 (4): 611 – 614.

陈增良, 杨新玲, 张钟宁, 2010. 一种鉴别菜粉蝶蛹雌雄的方法. 昆虫知识, 47 (1):213 – 214.

李德伟, 吴耀军, 蒋学建, 秦元丽, 赵程, 2008. 鉴别桐花树毛颚小卷蛾幼虫、蛹及成虫雌雄的方法. 昆虫知识, 45(3):489 – 491.

马继芳, 李立涛, 王玉强, 董立, 甘耀进, 董志平, 2011. 二点委夜蛾形态特征的初步观察. 应用昆虫学报, 48(6):1869 – 1873.

邵淑霞, 李春艳, 杨仕生, 孙文, 沈文武, 李正跃, 2008. 井上蛀果斑螟幼虫和蛹的形态描述及生物学特性. 云南农业大学学报, 23(1):22 – 28.

涂小云, 夏勤雯, 陈超, 陈元生, 匡先钜, 薛芳森, 2011. 亚洲玉米螟体重和体型的地理变异. 昆虫学报, 54(2): 143 – 148.

王振营, 鲁新, 何康来, 周大荣, 2000. 我国研究亚洲玉米螟历史、现状与展望. 沈阳农业大学学报, 31(5):402 – 412.

文丽萍, 周大荣, 王振营, 何康来, 2000. 亚洲玉米螟越冬幼虫存活和滞育解除与水分摄入的关系. 昆虫学报, 43 (增刊):137 – 142.

宣家发, 万东, 何俊旭, 孔祥贵, 倪传武, 吴有法, 1996. 松实小卷蛾幼虫和蛹的雌雄区分及蛹发育起点温度和产卵量的研究. 森林病虫通讯, 4:28 – 29.

赵刚, 朱海清, 1988. 区别亚洲玉米螟幼虫雌雄性的方法. 昆虫知识, 25(1):47.

赵琦, 张云慧, 刘怀, 程登发, 2011. 鉴别旋幽夜蛾雌雄蛹的方法. 应用昆虫学报, 48 (6):1879 – 1881.

赵新成, 王琛柱, 2006. 蛾类昆虫性信息素通讯系统的遗传与进化. 昆虫学报, 49 (2):323 – 332.

周大荣, 王蕴生, 李文德, 1988. 我国玉米螟优势种的研究. 植物保护学报, 15 (3):145 – 152.