

梨小食心虫幼虫龄数和龄期的划分*

王 芳^{1,2**} 庾 琴^{1,2,3} 郭贵明^{1,3} 郝 赤^{2***} 范仁俊^{1,3***}

(1. 山西省农业科学院植物保护研究所, 太原 030031; 2. 山西农业大学, 太谷 030801;

3. 农业有害生物综合治理山西省重点实验室, 太原 030031)

摘 要 【目的】为明确梨小食心虫 *Grapholitha molesta* (Busck) 幼虫的发育状况, 以便进行预测预报及采取防治措施。【方法】试验对幼虫头壳宽、上颚宽、体长和体宽 4 项指标进行测量。【结果】头壳宽和上颚宽符合 Dyar 法则和 Crosby 法则并呈现明显的线性回归关系, 可作为龄期划分的重要指标, 确定其龄期为 5 龄。室内 26℃ 温度下饲养幼虫历期约为 15 d, 1~4 d 为 1 龄期、4~7 d 为 2 龄期、6~10 d 为 3 龄期、8~12 d 为 4 龄期、11~15 d 为 5 龄期。【结论】幼虫刚毛、体色、斑纹也可作为龄期划分辅助参考方法, 体长和体宽变异性较大, 不宜作为幼虫龄数划分的标准。

关键词 梨小食心虫, 头壳, 上颚, 幼虫龄数

Determination of larval instar number and duration of the *Grapholitha molesta* (Lepidoptera: Tortricidae)

WANG Fang^{1,2**} YU Qin^{1,2,3} GUO Gui-Ming^{1,3} HAO Chi^{2***} FAN Ren-Jun^{1,3***}

(1. Institute of Plant Protection, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031, China;

2. Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China; 3. Key Laboratory of Agriculture Integrated Management of Hazardous Organisms in Shanxi Province, Taiyuan 030031, China)

Abstract [Objectives] To determine the developmental stages of *Grapholitha molesta* (Busck) larvae and provide a foundation for forecasting and scientific management of this pest. [Methods] Four morphological variables were measured, including larva head capsule width, mandible width, body length and head width. [Results] Head capsule width and mandible width conformed to the Dyar and Crosby rules, as well as having an obvious linear relationship, making them important criteria for identifying larval instars. The duration of the larval stage was about 15 d when reared under laboratory conditions at 26℃. Five *Grapholitha molesta* larval instars could be distinguished. These were; first instar (1-4 d), second instar (4-7 d), third instar (6-10 d), fourth instar (8-12 d), fifth instar (11-14 d). [Conclusion] Bristles, body color and markings can be used as auxiliary distinguishing criteria method when body length and width were too variable to reliably identify instars.

Key words *Grapholitha molesta*, head capsule, mandible, larva instar number

梨小食心虫 *Grapholitha molesta* (Busck) 属鳞翅目 (Lepidoptera) 小卷叶蛾科 (Olethreutidae), 又名梨小蛀果蛾, 东方果蠹蛾, 桃折小虫等, 简称“梨小”, 是一种世界性果树害虫 (北京农业大学等, 1981)。因梨小食心虫幼虫个体小、发育历期长、田间隐蔽性强、世代重叠及室内饲养

困难等原因, 导致对该虫的研究较为困难 (文丽华等, 2001)。目前, 国内外学者对该虫的生物学 (郭丽娜, 2014)、发生规律及防控技术 (周仙红等, 2011) 等已有相关报道, 目前国内外对梨小食心虫幼虫龄数和龄期未见详细报道。

观察昆虫幼虫的龄数和龄期是研究幼虫生

* 资助项目 Supported projects: 公益性农业行业科研专项 (201103024)

**第一作者 First author, E-mail: 244921493@qq.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: rjfan@163.com; yuqinninetwoone@163.com

收稿日期 Received: 2015-05-20, 接受日期 Accepted: 2015-10-12

长发育的重要内容。Dyar 研究发现幼虫某个部位的长宽度随着龄期增长呈一定几何数学关系, 通过 Dyar 法则可推断幼虫龄期(彩万志和庞雄飞, 2001)。有研究表明, 不同昆虫的幼虫可选择骨化程度较高结构作为龄期划分指标, 如白蜡窄吉丁 *Agrilus planipennis* Fairmaire 幼虫的尾叉长度和口缘宽度是龄期划分的最佳指标(王小艺等, 2005), 柑橘爆皮虫 *Agrilus citri* Mats 可通过上口片宽度划分幼虫龄期(魏书军等, 2006), 枣实蝇 *Carpomya vesuviana* 常用钩长和咽骨长划分龄期(胡陇生等, 2012)。目前, 蛾类幼虫常用头壳作为龄期划分的重要指标(孙艳娟等, 2009), 本文拟通过测定梨小食心虫幼虫头宽、上颚宽、体长和体宽以及观察外部形态特征, 研究其龄数和龄期, 为梨小食心虫准确划分龄期提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

梨小食心虫为山西省太谷县桃园桃梢上采集梨小食心虫幼虫, 在室内人工气候箱最佳饲养条件中(温度(26±0.5)℃、RH(70±10)%、15L:9D)连续饲养, 幼虫用人工饲料饲喂(王艳蓉等, 2011), 成虫饲喂 5% 蜂蜜水, 羽化后成虫交配产卵, 选取同日初孵幼虫供试。

1.2 试验方法

试验记录梨小食心虫从初孵幼虫到预蛹期共 15 d 的幼虫身体变化指标。取当天初孵幼虫, 接入装有人工饲料的试管中, 每根试管接入 3 头幼虫, 用脱脂棉封住管口, 共计 600 头。观察时间从接入试管当天计算。每日随机选取 40 头幼虫, 于下午 16 h 记录测量数据并观察外部形态变化。观察前用 75% 酒精杀死, 将虫体展平放置载玻片上, 在 OLYMPUS 体视镜 SZX7 将幼虫拍成 jpg 格式, 使用图像分析软件测定幼虫头宽、上颚宽、体长及体宽 4 项指标。

1.3 数据统计与分析

使用 EXCEL 2007 软件, 根据测定的原始数

据, 将幼虫的头宽值由小到大制作成频次分布表, 并绘制频次分布图确定幼虫龄数。依据幼虫头壳宽度和上颚宽测量值进行统计参数分析。利用 SPSS Statistics 19.0 软件将幼虫头宽值和上颚宽值与相应龄期进行指数曲线拟合, 根据 Dyar 法则、Brooks 指数和 Crosby 指数, 对头宽和上颚宽数据与相应龄数进行线性回归分析, 当 $P < 0.05$ 说明整个回归模型有显著作用, $P > 0.05$ 说明拟合的回归模型无效。以此来验证龄期划分的合理性, 以确定最佳分龄指标。

Brooks 指数 = x_n/x_{n-1} (x_n 和 x_{n-1} 分别表示第 n 龄和 $n-1$ 龄幼虫所测指标的平均值),

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

当 Crosby 指数大于 10% 时表明龄期划分指标不合理。

2 结果与分析

2.1 梨小食心虫幼虫龄数的确定

从图 1 和图 2 中可以看出, 头壳宽值和上颚宽值都出现了 5 个相对明显的集中分布区, 且头壳宽和上颚宽 Crosby 指数小于 10% (表 1), 由 Dyar 定律推断梨小食心虫幼虫分为 5 龄。同时, 对不同龄期幼虫的头壳宽值和龄数进行线性和指数回归分析, 曲线的拟合度较好 ($F=50060.65$, $P=0.00$) (图 3), 上颚宽和龄数关系的曲线拟合度也较好 ($F=16609.86$, $P=0.00$) (图 4), 二者皆具有极显著的统计学意义。因此, 梨小食心虫幼虫划分为 5 个龄数是合理的, 头壳和上颚可作为龄数划分的依据。同时, 头壳宽曲线拟合度明显优于上颚宽。由此表明, 梨小食心虫幼虫上颚宽为最佳分龄指标。

2.2 体长和体宽测定结果分析

通过分析, 梨小食心虫幼虫体长和体宽频次分布图未见明显集中分布区, 无法判别幼虫龄期。通过测量得出, 梨小食心虫幼虫体长为 0.95 ~ 13 mm, 体宽为 0.16 ~ 2.30 mm。

2.3 幼虫龄数和龄期

由图 5 和图 6 可以看出, 梨小食心虫幼虫从

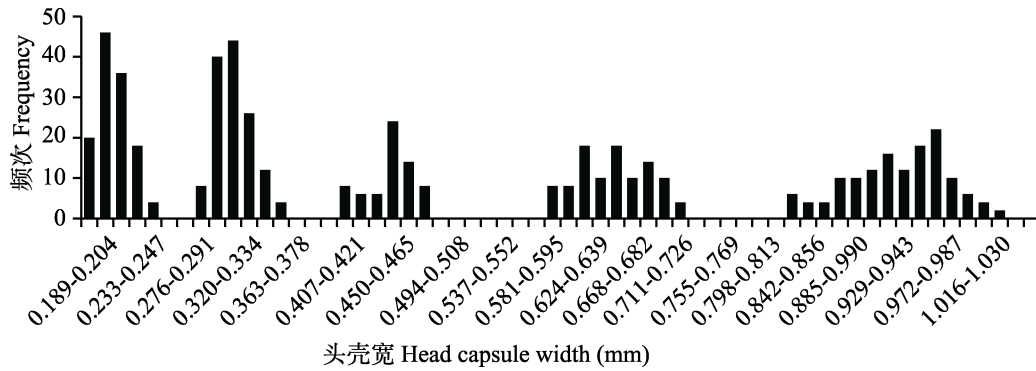


图 1 梨小食心虫幼虫头壳宽度频次分布图

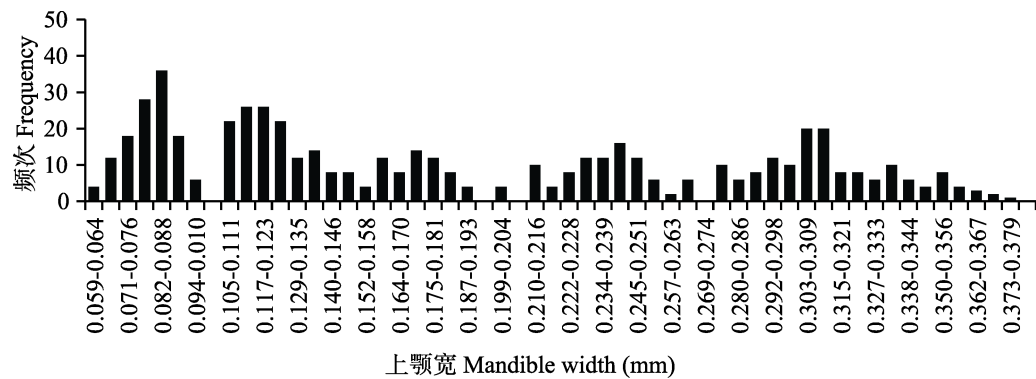
Fig. 1 Frequency histograms of head capsule width of *Grapholitha molesta*

图 2 梨小食心虫幼虫上颚宽宽度频次分布图

Fig. 2 Frequency histograms of mandible width of *Grapholitha molesta*

表 1 梨小食心虫幼虫头壳宽度和上颚宽测量值的统计参数

Table 1 Statistical parameters of head capsule width and mandible width of *Grapholitha molesta*

形态结构 Morphological structures	龄数 Instar	变幅（mm） Class limits	样本数 Number of samples	有效 百分比 Effective percent	均值 （mm） Mean±SE	标准差 Standard deviation	标准错误 平均值 Standard error mean	95%置信区间		Brooks 指数 Brooks' ration	Crosby 指数 Crosby' ration
								95% confidence interval			
								下限 Lower limit	上限 Upper limit		
头壳 Head capsule	1	0.189-0.262	124	0.221	0.218	0.015	0.001	0.214	0.220	-	-
	2	0.291-0.378	134	0.239	0.328	0.017	0.001	0.325	0.331	1.509	-
	3	0.421-0.508	66	0.118	0.471	0.020	0.002	0.466	0.476	1.433	-0.050
	4	0.610-0.740	100	0.179	0.673	0.033	0.003	0.667	0.680	1.430	-0.002
	5	0.827-1.030	176	0.293	0.931	0.045	0.004	0.923	0.939	1.383	-0.033
上颚 Mandible	1	0.059-0.100	122	0.218	0.081	0.009	0.001	0.079	0.083	-	-
	2	0.106-0.152	138	0.246	0.124	0.012	0.001	0.122	0.126	1.530	-
	3	0.152-0.192	62	0.111	0.172	0.010	0.001	0.169	0.174	1.385	0.095
	4	0.199-0.269	92	0.164	0.236	0.016	0.002	0.233	0.240	1.377	0.006
	5	0.274-0.379	186	0.310	0.315	0.024	0.002	0.311	0.319	1.332	0.033

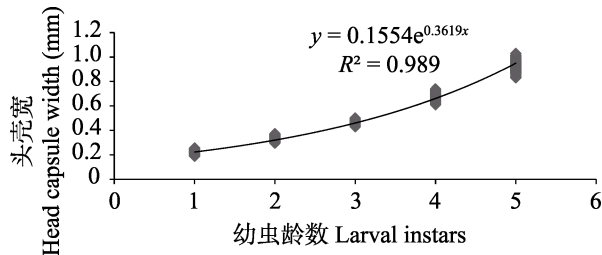


图 3 梨小食心虫头壳宽与幼虫龄期的回归关系
Fig. 3 The regression relationship between larval instars and head capsule widths of *Grapholitha molesta*

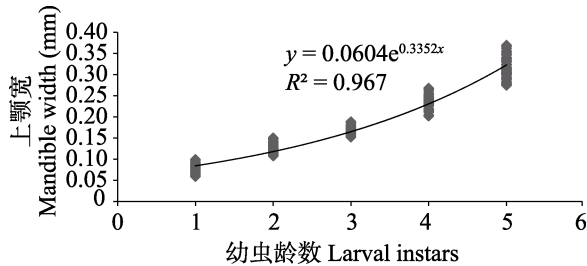


图 4 梨小食心虫上颚宽值与龄期回归线分析
Fig. 4 The regression relationship between larval instars and mandible width of *Grapholitha molesta*

13 d 开始陆续停止取食, 15 d 全部停止, 从幼虫孵化至预蛹期约 15 d。从图 5 表明, 1~4 d、4~7 d、6~10 d、8~12 d、11~15 d 幼虫可分别划分为同一龄期, 共 5 个龄期, 相邻龄期有交叉现象。第 4 天、第 6 天、第 8 天、第 11 天为幼虫开始跨龄日。1~3 d 为 1 龄期幼虫; 第 5 天幼虫为 2 龄幼虫; 3 龄、4 龄幼虫龄期交叉明显; 第 13 天后皆为 5 龄幼虫。图 6 中也可大致反映出此规律, 因梨小食心虫幼虫上颚宽值较小, 相邻龄期间上颚宽范围值易出现交叉现象, 在判别龄数和日龄关系时可作为辅助手段。

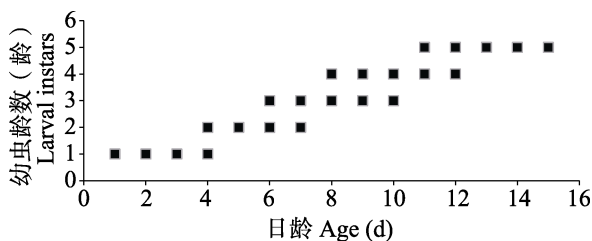


图 5 梨小食心虫幼虫头宽与日龄关系的头宽值分析
Fig. 5 Relationship analysis of larval instars and age about head capsule of *Grapholitha molesta*

2.4 外部形态特征变化情况

通过奥林巴斯 OLYMPUS 体视镜 SZX7 拍照

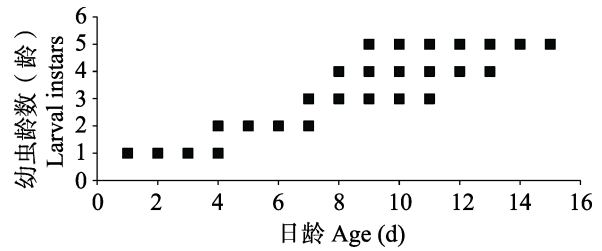


图 6 梨小食心虫幼虫上颚宽与日龄关系的上颚宽分析
Fig. 6 Relationship analysis of larval instars and age about mandible width of *Grapholitha molesta*

和肉眼观察发现, 1 龄幼虫体色为半透明黄褐色, 头部明显宽于胸腹部, 刚毛多, 有黑色毛片; 2 龄期幼虫体躯变为半透明乳白色, 黑色毛片脱落, 随着日龄增长, 虫体变得光滑; 3 龄期幼虫尾部出现黑褐色斑纹; 4 龄期幼虫头宽和体躯明显大于 3 龄幼虫, 4 龄后期前胸体内逐渐变色并逐渐向腹部延伸; 5 龄期幼虫头部蜕变为红褐色, 体躯为红色, 逐渐进入预蛹期。通过观察幼虫外部形态特征变化, 可大致区分幼虫龄期 (图 7)。

3 讨论

本文共测定梨小食心虫幼虫头壳宽、上颚宽、体长和体宽 4 项指标。其中, 头壳和上颚可作为龄期划分的重要指标, 与 Dyar 法则相一致, 确定该虫分为 5 龄。因头壳和上颚骨化强, 形态较稳定, 同龄的头宽大致固定, 随着龄数增长, 头壳宽和上颚宽便会呈间断式增长 (陈永年和潘桐, 1988)。目前, 在鳞翅目昆虫幼虫的龄期划分报道中, 金纹细蛾 *Lithocolletis ringoniella* Mats、沙棘木蠹蛾 *Holcocerus hippophaecolus* 和榆木蠹蛾 *Holcocerus vicarius* (Walker) 等幼虫龄期皆可通过头宽准确划分 (宗世祥等, 2006; 王春蕾等, 2007; 杨美红等, 2012)。相同龄期下的幼虫, 受个体发育或其他因素的影响, 体长和体宽可能差异较大。研究表明, 处于饥饿状态下的杨黑点叶蜂 *Pristophora conjugata* Dahlbom 的幼虫生长发育缓慢 (范丽清, 2008)。因而, 体长和体宽不可作为龄期划分的依据。再者, 幼虫龄期还可通过体表外部形态特征辨别, 棉铃虫 *Helicoverpa armigera* Hübner 可通过毛片、体色等变化辨别龄期 (朱宝涛, 1979), 根据体色, 体线等外部特



图 7 梨小食心虫幼虫各龄期形态特征

Fig. 7 The morphological characteristics of each instar age of *Grapholitha molesta*

A. 1 龄期幼虫 ; B. 2 龄期幼虫 ; C. 3 龄期幼虫 ; D. 4 龄期幼虫 ; E. 5 龄期幼虫 ; F. 各龄期幼虫。

A. First instar larva; B. Second instar larva; C. Third instar larva; D. Fourth instar larva;

E. Fifth instar larva; F. The larva of each instar.

征变化可划分二化螟 *Chilo suppressalis* (Walker) 幼虫龄期 (宋慧英等, 1958)。通过试验观察, 梨小食心虫幼虫龄期还可通过幼虫刚毛、头壳颜色以及体色等变化大致区分, 为幼虫龄期划分提供辅助参考依据。

梨小食心虫室内 26℃ 温度下饲养梨小食心虫幼虫历期约为 15 d, 从 13 d 开始陆续进入预蛹期, 15 d 已全部进入预蛹期。老熟幼虫停止取食后离开幼虫生活环境直至化蛹前的阶段为预蛹期 (杨忠岐和王小艺, 2007), 13~15 d 数据分析表明, 幼虫头宽值和上颚宽值与 5 龄期幼虫无明显变化, 将预蛹期幼虫归为 5 龄期幼虫。这与大造桥虫预蛹期幼虫和末龄幼虫处于同一龄期 (董易之等, 2011) 结论一致。

本文供试虫源为室内人工饲养获得的梨小

食心虫, 与自然条件下幼虫龄期天数、外部形态及发育历期等可能会存有一定差异, 在实际应用中应考虑田间具体的情况进行相应调整, 来指导田间害虫的综合防治措施。

参考文献(Reference)

- Beijing Agricultural University, South China Agricultural University, Fujian Agricultural and Forestry University, Henan Agricultural University, 1981. Fruit Entomology. Beijing: China Agriculture Press. 322. [北京农业大学, 华南农学院, 福建农学院, 河南农学院, 1981. 果树昆虫学. 北京: 中国农业出版社. 322.]
- Cai WZ, Pang XF, 2001. General Entomology. Beijing: China Agricultural University Press. 236. [彩万志, 庞雄飞, 2001. 普通昆虫学. 北京: 中国农业大学出版社. 236.]
- Chen YN, Pan D, 1988. Growth law of head breadth and feeding amount of larvae. *Chinese Bulletin of Entomology*, 25(4): 235–

240. [陈永年, 潘桐, 1988. 也谈昆虫幼虫头宽及摄食量的增长规律. 昆虫知识, 25(4): 235–240.]
- Dong YZ, Chen BX, Xu S, Li PY, 2011. Division of larval of the litchi giant looper. *Journal of Enviromental Entomology*, 33(4): 552–556. [董易之, 陈炳旭, 徐淑, 李鹏燕, 2011. 荔枝大造桥虫幼虫龄数的划分. 环境昆虫学报, 33(4): 552–556.]
- Fan LQ, 2008. The number of larval instars and duration of each instar of *Pristiphora conjugate*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 45(1): 144–145. [范丽清, 2008. 杨黑点叶蜂幼虫龄数和龄期. 昆虫知识, 45(1): 144–145.]
- Guo LN, 2014. Comparison of biological characteristics between the natural population and the laboratory population of the oriental fruit moth, *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae). *Acta Entomologica Sinica*, 57(2): 226–234. [郭丽娜, 2014. 梨小食心虫自然种群与室内继代饲养种群生物学特性比较. 昆虫学报, 57(2): 226–234.]
- Hu LS, Qi CJ, Zhu YF, Tian CM, Ren L, 2012. Determination on larva instars of ber fruit fly. *Journal of Xinjiang Agricultural University*, 35(2): 137–139. [胡隴生, 齐长江, 朱银飞, 田呈明, 任玲, 2012. 枣实蝇幼虫龄期的测定. 新疆农业大学学报, 35(2): 137–139.]
- Song HY, Chen CM, Zeng JL, Liu SL, 1958. Identify of instars of *Chilo suppressalis* larva. *Huazhong Agricultural Science*, (2): 81–84. [宋慧英, 陈常铭, 曾家丽, 刘仕龙, 1958. 二化螟幼虫龄期鉴别. 华中农业科学, (2): 81–84.]
- Sun YJ, Wei JY, Yang ZD, Li M, Wei YL, Wei HH, 2009. Division of larval instars of the *Buzura suppressaria*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 46(6): 892–895. [孙艳娟, 韦金英, 杨振德, 李明, 韦泳丽, 韦海花, 2009. 油桐尺蠖幼虫龄期的划分. 昆虫知识, 46(6): 892–895.]
- Wang CL, Cong B, Wang HP, 2007. Identification on larval instars of the asintic apple leaf-miner, *Lithocolletis ringoniella* Mats. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 38(3): 404–406. [王春蕾, 丛斌, 王洪平, 2007. 金纹细蛾幼虫龄期的鉴别. 沈阳农业大学学报, 38(3): 404–406.]
- Wang XY, Yang ZQ, Liu GJ, 2005. Larval instars and stadia of *Agrilus planipennis* (Coleoptera: Buprestidae). *Scientia Silvae Sinicae*, 41(3): 97–102. [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.]
- Wang YR, Huang M, Liu XW, WU JX, Zhao D, 2011. Artificial diet for larvae of the oriental fruit *Grapholita molesta* (Busck). *Journal of Northwest A & F University(Nat.Sci.Ed.)*, 39(5): 161–166. [王艳蓉, 黄敏, 刘喜旺, 仵均祥, 赵栋, 2011. 梨小食心虫人工饲料的研究. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 39(5): 161–166.]
- Wei SJ, Zheng HH, HuangFu WG, Shi ZH, Chen XX, 2006. Division of larval instars of the citrus borer, *Agrilus auriventris*. *Acta Entomologica Sinica*, 49(2): 302–309. [魏书军, 郑宏海, 皇甫伟国, 施祖华, 陈学新, 2006. 柑桔爆皮虫幼期各虫态的形态学观察. 昆虫学报, 49(2): 302–309.]
- Wen LH, Liu HQ, Gao Y, He ZJ, 2011. Forecast and control of *Grapholita molesta* (Busck). *Tianjin Science and Technology of Agriculture and Forestry*, 163(5): 1–3. [文丽华, 刘海青, 高燕, 贺宗津, 2001. 梨小食心虫测报及防治研究. 天津农林科技, 163(5): 1–3.]
- Yang MH, Zhang JT, Zong SX, Luo YQ, Niu HL, Zhang B, 2012. Determination of the larval instar of the carpenter moth *Holcocerus vicarious*. *Acta Entomologica Sinica*, 55(6): 710–718. [杨美红, 张金桐, 宗世祥, 落有庆, 牛辉林, 张彪, 2012. 榆木蠹蛾幼虫龄数的确定. 昆虫学报, 55(6): 710–718.]
- Yang ZQ, Wang XY, 2007. Talking about prepupa of insect. *Chinese Bulletin of Entomology*, 44(6): 920–922. [杨忠岐, 王小艺, 2007. 谈谈昆虫的预蛹. 昆虫知识, 44(6): 920–922.]
- Zhou XH, Li LL, Zhang SC, Zhang AS, Men XY, Yu Y, 2011. Review on occurrence regularity and pollution-free control technology of *Grapholitha molesta* (Busck). *Shandong Agricultural Sciences*, 10: 76–81. [周仙红, 李丽莉, 张思聪, 张安盛, 门兴元, 于毅, 2011. 梨小食心虫发生规律及无公害防治技术. 山东农业科学, 10: 76–81.]
- Zhu BT, 1979. Identify of larval instars of *Helicoverpa armigera*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 16(6): 268–269. [朱宝涛, 1979. 棉铃虫幼虫的龄期识别. 昆虫知识, 16(6): 268–269.]
- Zong SX, Luo YQ, Xu ZC, Wang T, 2006. The preliminary research on the larval instars of *Holcocerus hippophaecolus*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 43(5): 626–631. [宗世祥, 骆有庆, 许志春, 王涛, 2006. 沙棘木蠹蛾幼虫龄期的初步研究. 昆虫知识, 43(5): 626–631.]