



一种快速鉴别柑橘潜叶蛾蛹及成虫雌雄的简易方法^{*}

郭先婷^{1**} 姚海峰² 王洁威¹ 吴慧明¹ 饶琼^{1***}

(1. 浙江农林大学现代农学院, 浙江省农产品品质改良技术研究重点实验室, 杭州 311300;

2. 杭州市临安区农林技术推广中心, 杭州 311300)

摘要 【目的】柑橘潜叶蛾 *Phyllocnistis citrella* Stainton 是柑橘重要害虫, 本研究拟建立一种快速鉴别柑橘潜叶蛾蛹及成虫性别的简易方法。【方法】利用体视显微镜观察、拍照记录柑橘潜叶蛾蛹和成虫的腹部末端形态特征并进行比较分析, 待蛹羽化后进行解剖验证结果。【结果】与柑橘潜叶蛾雄蛹相比, 雌蛹的第7腹节下缘分界线不明显, 生殖孔和肛门分别在第8腹节和第10腹节, 而雄蛹的第7腹节下缘分界线明显, 生殖孔在第9腹节, 肛门在第10腹节。柑橘潜叶蛾雌成虫腹部末端呈圆筒形, 而雄成虫腹部末端相对尖细; 轻轻按压成虫腹部, 雌蛾在末端伸出部分的两侧有黑斑, 而雄蛾在末端伸出部分的两侧没有黑斑, 但有一对长毛簇, 在伸出的同时散开。该方法能快速鉴别柑橘潜叶蛾蛹及成虫的性别, 其准确率为100%。【结论】通过比较柑橘潜叶蛾雌雄蛹生殖孔及肛门的位置, 可以准确区分雌雄蛹; 轻压并观察雌雄成虫腹部伸出末端黑斑或长毛簇的有无可有效区分成虫性别。

关键词 柑橘潜叶蛾; 蛹; 成虫; 性别; 鉴别

A method for rapidly determining the sex of pupae and adults of *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera: Phyllocnistidae)

GUO Xian-Ting^{1**} YAO Hai-Feng² WANG Jie-Wei¹ WU Hui-Ming¹ RAO Qiong^{1***}

(1. The Key Laboratory for Quality Improvement of Agricultural Products of Zhejiang Province, College of Advanced Agricultural Sciences, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, China; 2. Hangzhou Lin'an Agriculture and Forestry Technology Extension Center, Hangzhou 311300, China)

Abstract 【Objectives】The citrus leaf miner, *Phyllocnistis citrella*, is an important pest of citrus. A simple and practical method was developed to sex adults and pupae of this pest quickly and accurately. 【Methods】The morphological characteristics of the abdominal segments of pupae and adults of citrus leaf miner were observed and compared. 【Results】In female pupae, the dividing line of the lower edge of the 7th ventral segment is not obvious, and the reproductive pore and anus are located in the 8th and 10th ventral segments, respectively. In male pupae, the dividing line of the lower edge of the 7th ventral segment is obvious, the reproductive pore is on the 9th ventral segment and the anus is on the 10th ventral segment. The end of the abdomen of adult females is cylindrical and, if pressed gently, black spots can be seen on both sides of the protruding end. However, in adult males, the end of the abdomen is tapered and covered with white scales. No black spots are apparent but there are a pair of long hair clusters which spread out when the end of a males' abdomen is pressed. 【Conclusion】Adults and pupae of *P. citrella* can be sexed on the basis of morphological characteristics with 100% accuracy. These findings provide a reference for insect breeding technology, pest monitoring and the integrated control of the citrus leaf miner.

Key words *Phyllocnistis citrella*; pupa; adult; sex; identify

*资助项目 Supported projects: 国家重点研发计划 (2019YFD1002100); 国家级大学生创新创业训练计划项目 (202110341004)

**第一作者 First author, E-mail: guoxiantinggezi@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: qiong.rao@zafu.edu.cn

收稿日期 Received: 2022-01-29; 接受日期 Accepted: 2022-03-26

柑橘潜叶蛾 *Phyllocnistis citrella* Stainton, 又名柑桔潜叶蛾、绘图虫等, 属鳞翅目 Lepidoptera 潜叶蛾科 Phyllocnistidae, 主要为害柑橘嫩梢和幼叶等。成虫产卵于幼叶嫩梢上, 卵孵化后钻入柑橘叶表皮内取食叶肉组织, 形成弯曲的虫道, 并在虫道中间留下排泄物; 随着时间推移, 虫道干枯破裂, 造成被害叶片卷缩, 叶片光合效率下降, 被害叶片易脱落, 严重影响柑橘的生长发育、开花和结果, 造成柑橘严重减产(舒彬等, 2013; 宋秀铁, 2018)。此外, 柑橘潜叶蛾造成的伤口又有利于其它病虫害的发生, 如柑橘溃疡病等(易继平等, 2019)。因此, 有必要加强对柑橘潜叶蛾的监测及预测预报, 而准确鉴别柑橘潜叶蛾蛹和成虫的性别是解决柑橘潜叶蛾危害的有效途径(易继平等, 2021)。此外, 柑橘潜叶蛾作为一种重要的实验材料, 快速准确地鉴别其性别为后续各项研究工作的顺利进行、田间种群监测及综合防治等具有十分重要的意义。

鳞翅目昆虫雌雄蛹的鉴别方法大多以生殖孔的分布和第 8-10 腹节分节作为分类特征(赵琦等, 2011; 刘怡等, 2015; 赵晓峰等, 2016; 冯丽凯等, 2019), 鳞翅目昆虫雌雄成虫的鉴别方法大多以性成熟后的生殖器形态、翅面特征作为分类特征(茅裕婷等, 2017; 郭婷婷等, 2018)。由于昆虫间种的差异, 尽管这些特征相似, 但是还是存在种的特异性, 如腹部末端分节不同、生殖器形态不同、翅面特征不同。有关柑橘潜叶蛾蛹和成虫的外部形态特征已有报道。如刘秀琼和曾仁光(1980)及 Garrido 等(1996)根据雌雄成虫生殖器和蛹的形态特征来鉴别潜叶蛾科昆虫的成虫和蛹的性别, 但以文字描述为主, 具体的鉴别特征未见清晰的报道。本研究采集被害柑橘嫩梢, 饲养至柑橘潜叶蛾化蛹和羽化, 观察蛹和成虫腹部末端形态特征并进行拍照, 提出一种快速鉴别柑橘潜叶蛾蛹及成虫雌雄的简易方法。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

柑橘潜叶蛾幼虫采自浙江省衢州市江山市四都镇上峰村桧柑林。将带虫道的嫩梢剪下, 做

好保湿处理后带回实验室饲养。

1.2 试虫饲养方法

将采集回来的嫩叶放入养虫箱中保湿饲养, 温度为 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$, 相对湿度为 70%-75%, 光周期为 16L : 8D。每日观察幼虫生长发育情况, 并及时清理发霉腐烂的叶片, 保持养虫箱内的清洁。待幼虫化蛹后, 用毛笔将蛹从叶片上分离下来, 在体视显微镜下观察其形态特征并进行拍照, 将发现有明显区别的蛹分为两类, 然后单头分装到玻璃指形管中继续饲养, 玻璃指形管底部放入适宜大小的棉花, 滴入 2-3 滴 5% 的蜂蜜水以补充营养, 直至羽化为成虫, 观察两类成虫的外部形态差异, 并进行拍照记录, 然后进行解剖, 最终以具有卵巢的成虫为雌虫, 具有精巢的为雄虫。

1.3 试虫解剖方法

用针灸针插入前胸中部, 腹部朝上将其固定于红色蜡盘上, 用针灸针轻轻按压昆虫腹部末端, 使昆虫收缩的外生殖器暴露出来, 观察其外生殖器的特点, 并拍照记录。参照宋俊元等(2012)及孟银凤等(2013)方法进行解剖, 滴入几滴 75% 酒精溶液, 刮去成虫腹部表面的鳞片。在体视显微镜(Nikon SMZ25)下观察, 用针灸针从成虫腹部左侧或右侧轻轻划开表皮, 将体内器官轻轻挤压出来, 小心剥离生殖系统, 浸泡于蒸馏水中。观察雌、雄成虫内生殖系统, 并进行拍照, 同时验证性别鉴定结果的准确率。

2 结果与分析

2.1 蛹外部形态特征描述

柑橘潜叶蛾蛹长 2.1-2.3 mm, 初蛹呈淡黄色, 近羽化时深黄褐色, 外披黄褐色薄茧。蛹的腹面头顶端有一个倒“丁”字形黑色骨化构造, 微向后弯, 头尖长三角形, 复眼红黑色, 近肾形。触角长于前翅, 达第 7 腹节后缘。第 1 腹节中部靠下方有小长椭圆形突起。第 1-7 腹节两侧中部各有一疣状突起, 着生一刚毛。第 2-7 腹节背中央有两列较粗大刺突, 其旁密生小刺突, 末节两侧各有一个刺突(图 1)。

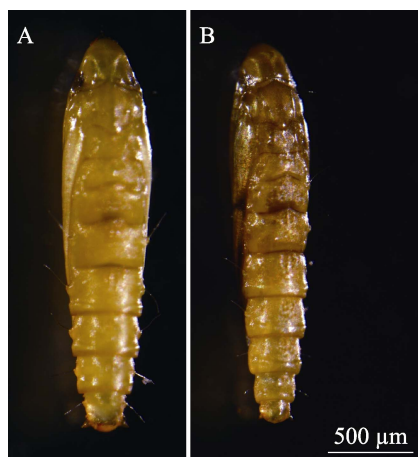


图 1 柑橘潜叶蛾蛹的腹面观

Fig. 1 The abdomen of pupa of *Phyllocnistis citrella*

A. 雌蛹; B. 雄蛹。

A. Female pupa; B. Male pupa.

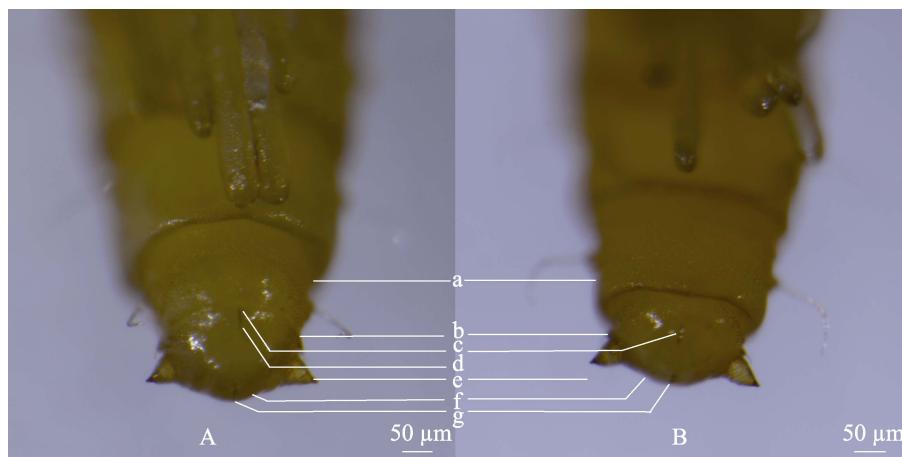


图 2 柑橘潜叶蛾蛹的腹部末端

Fig. 2 The end of abdomen of pupa of *Phyllocnistis citrella*

A. 雌蛹; B. 雄蛹。a: 第 7 腹节; b: 第 8 腹节; c: 生殖孔; d: 产卵孔; e: 第 9 腹节; f: 第 10 腹节; g: 肛门。

A. Female pupa; B. Male pupa. a: The 7th abdominal segment; b: The 8th abdominal segment; c: Gonopore; d: Oviposition holes; e: The 9th abdominal segment; f: The 10th abdominal segment; g: Anus.

2.3 成虫外部形态特征描述

柑橘潜叶蛾成虫为银白色, 体长 2.2-2.3 mm。头部平滑, 前端钝圆, 复眼黑色突出, 触角细长如丝。前胸覆有白毛。前翅银白尖叶状, 有两条黑色条纹, 基部相合, 前纹接近翅的前缘, 后纹位于翅中央。在翅近中部稍后方有开口“Y”字形黑色长纹。前缘近中央至外缘具棕黄色毛, 翅顶角有圆形黑斑, 在黑斑之前有一较小的白斑。后翅银白色, 缘毛较前翅长。足细长, 前足

2.2 雌雄蛹的快速鉴别特征

雌蛹的第 7 腹节下缘分界线不明显, 生殖孔及肛门分别在第 8 节及第 10 节腹面 (图 2: A)。雄蛹的第 7 腹节下缘分界线明显, 生殖孔在第 9 腹节, 肛门在第 10 腹节 (图 2: B)。

将镜检初次鉴别过的 200 头柑橘潜叶蛾蛹 (A 蛹和 B 蛹各 100 头) 分别单头放置于指形玻璃管中饲养, 羽化后根据成虫生殖器的形态特征, 验证通过蛹期腹部末端特征来鉴别雌雄的快速方法的准确性, 结果显示, A 蛹成功羽化成成虫 81 头, 解剖鉴定均为雌虫, B 蛹成功羽化成成虫 78 头, 解剖鉴定均为雄虫, 准确性为 100%。结果表明, 根据蛹的腹部形态特征差异, 可准确鉴别柑橘潜叶蛾蛹的雌雄性别。

短, 中足次之, 后足最长, 足上覆盖着银色毛。腹部披银白色鳞片 (图 3: A-D)。

2.4 雌雄成虫的快速鉴别特征

雌成虫末端近圆筒形, 轻轻按压腹部, 腹部末端伸出部分的两侧各有一小黑斑。雄成虫末端较尖细, 轻轻按压腹部, 腹部末端伸出部分两侧无小黑斑, 但有一对长毛簇, 伸出时散开。

按照上述鉴别特征对成虫的性别进行判断, 并对鉴定的雌雄成虫进行解剖, 观察内生殖器的

形态特征。雌虫外生殖器的肛突表面具许多长毛,先端稍尖,交配囊管细长,交配囊体椭圆形,且交配囊体后方有两个角状囊片(图4:A);雄

虫外生殖器的抱器为长条形,端部较宽而略呈弧形,抱器顶端中部突出,阳茎长筒型,后有一对长毛簇(图4:B)。

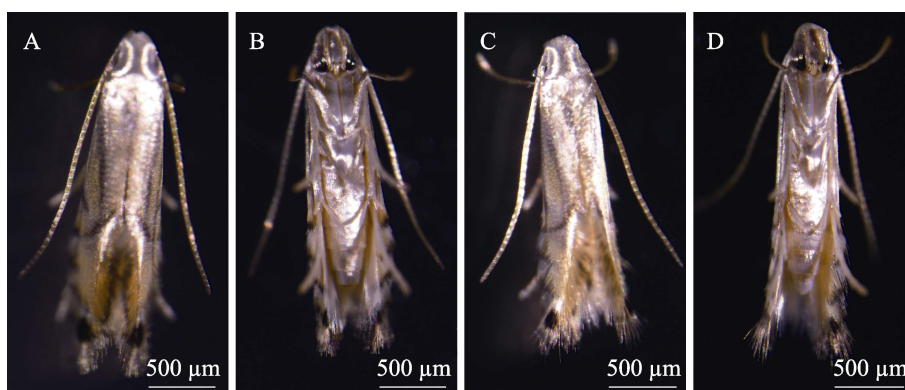


图3 柑橘潜叶蛾雌雄成虫

Fig. 3 Male and female adults of *Phyllocnistis citrella*

A. 雌成虫背面观; B. 雌成虫腹面观; C. 雄成虫背面观; D. 雄成虫腹面观。
A. The ventral view of female adult; B. The abdominal view of female adult;
C. The ventral view of male adult; D. The abdominal view of the male adult.

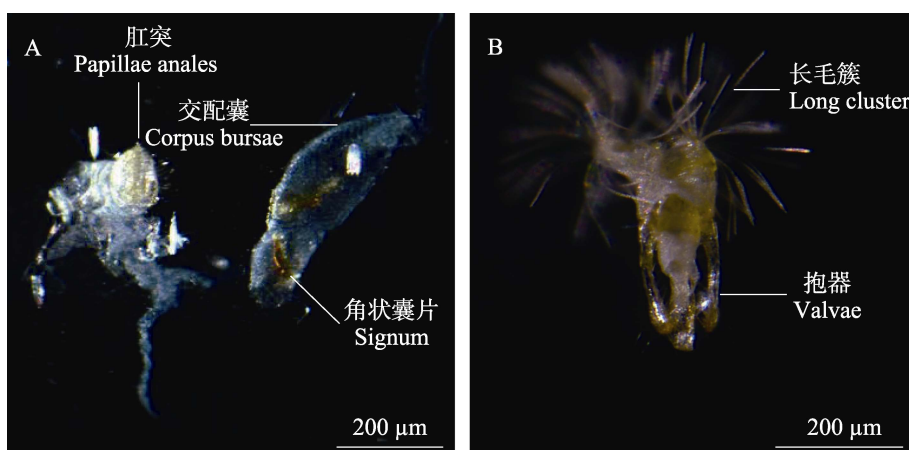


图4 柑橘潜叶蛾成虫生殖器

Fig. 4 Genitalia of adults of *Phyllocnistis citrella*

A. 雌虫; B. 雄虫。
A. Female; B. Male.

通过观察成虫腹部末端的特征,本研究共鉴别雄成虫 76 头,雌成虫 72 头。根据内生殖器的形态特征进行验证后,雌雄成虫鉴定的准确性为 100%。因此,通过观察成虫腹部末端的形态特征可快速准确鉴定柑橘潜叶蛾成虫的性别。

3 结论与讨论

柑橘潜叶蛾为鳞翅目潜叶类害虫,主要以幼

虫潜入叶表皮下取食叶肉为害,成虫体型微小且活跃,难以根据翅面特征进行快速鉴别雌雄。本研究通过观察柑橘潜叶蛾成虫腹部末端的特征,发现雌虫腹部末端两侧各有一小黑斑,肛突表面具许多长毛;雄虫腹部末端两侧没有小黑斑,外生殖器伸出时散开一对长毛簇,这与双委夜蛾 *Athetis dissimilis* (郭婷婷等, 2018) 和朱红毛斑蛾 *Phauda flammans* (茅裕婷等, 2017) 相似,

但外生殖器形态略有不同。

在昆虫羽化前, 根据鳞翅目蛹的腹部末端特征来鉴别雌雄, 将有利于鳞翅目不同性别成虫的试验研究。本文通过观察柑橘潜叶蛾的雌雄蛹, 其主要区别在腹部末端分节及生殖孔位置上, 即雌蛹第 7 腹节下缘分界线不明显, 生殖孔在第 8 腹节; 雄蛹第 7 腹节下缘分界线明显, 生殖孔在第 9 腹节。就雌雄蛹腹部分节来看, 柑橘潜叶蛾与近年报道的旋幽夜蛾 *Scotogramma trifolii* (赵琦等, 2011) 和苹果蠹蛾 *Cydia pomonella* (冯丽凯等, 2019) 等鳞翅目蛹相似, 均表现为雌蛹第 7 腹节分节不明显, 雄蛹第 7 腹节分节明显, 这与甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (赵晓峰等, 2016)、黑肾卷裙夜蛾 *Plecoptera oculata* (刘怡等, 2015)、黏虫 *Mythimna separata* (陈琦等, 2019)、草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* (董前进等, 2019) 和草地螟 *Loxostege sticticalis* (胡敏等, 2020) 等不同; 就生殖孔位置来看, 雌蛹生殖孔位于第 8 腹节, 雄蛹生殖孔位于第 9 腹节, 这与甜菜夜蛾 (赵晓峰等, 2016)、旋幽夜蛾 (赵琦等, 2011)、黏虫 (陈琦等, 2019)、苹果蠹蛾 (冯丽凯等, 2019)、草地贪夜蛾 (董前进等, 2019)、草地螟 (胡敏等, 2020) 和亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* (张军等, 2013) 等相似。通过观察柑橘潜叶蛾蛹发现, 雌蛹第 7 腹节下缘分界线不明显, 雄蛹第 7 腹节下缘分界线明显。与观察生殖孔的位置相比, 观察雌雄蛹第 7 腹节下缘分界线是否明显更方便、快速。

本研究提出的柑橘潜叶蛾蛹和成虫的雌雄鉴别方法简单、快速, 且准确率达 100%, 为研究柑橘潜叶蛾对外源物质的选择偏好性和触角电生理反应等方面奠定良好基础, 同时, 对柑橘潜叶蛾室内继代饲养、交配及产卵行为观察、田间虫情监测及其综合防治等具有重要意义。

参考文献 (References)

Chen Q, Hou YH, Duan Y, Fan ZY, Shen HL, Chen L, Liu D, Shi XK, Li SM, 2019. Rapid sex identification of *Mythimna separata* pupae. *Plant Protection*, 45(2): 157–159. [陈琦, 侯艳红, 段云, 范志业, 沈海龙, 陈莉, 刘迪, 师兴凯, 李世民, 2019. 黏虫蛹性别的快速鉴别方法. 植物保护, 45(2): 157–

159.]

Dong QJ, Zhou JC, Zhu KH, Zhang ZT, Dong H, 2019. A simple method for identifying sexuality of *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) pupae and adults. *Plant Protection*, 45(5): 96–98, 105.

[董前进, 周金成, 朱凯辉, 张柱亭, 董辉, 2019. 一种快速鉴别草地贪夜蛾蛹及成虫雌雄的简易方法. 植物保护, 45(5): 96–98, 105.]

Feng LK, Liu Z, Li GF, Chen LS, Lin KJ, 2019. Morphological criteria for sexing different developmental stages of the codling moth, *Cydia pomonella* (L.). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 56(2): 354–360. [冯丽凯, 刘政, 李国富, 陈刘生, 林克剑, 2019. 苹果蠹蛾不同虫态体征及雌雄个体的快速鉴别方法. 应用昆虫学报, 56(2): 354–360.]

Garrido JA, 1996. Differences in the morphology of male and female pupae of *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae). *Florida Entomologist*, 79(4): 603–606.

Guo TT, Men XY, Chen SY, Zhao CM, Zhang SC, Lu ZB, Yu Y, Zhang AS, Li LL, 2018. A method for rapid sex-determination of pupae and adults of *Athetis dissimilis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Shandong Agricultural Sciences*, 50(10): 116–119. [郭婷婷, 门兴元, 陈赛月, 赵传敏, 张思聪, 卢增斌, 于毅, 张安盛, 李丽莉, 2018. 一种快速鉴别双委夜蛾蛹和成虫雌雄的方法. 山东农业科学, 50(10): 116–119.]

Hu M, Chen YX, Zhang L, Luo LZ, Ji R, Jiang XF, 2020. Methods for identification of the morphological character and sex of *Loxostege sticticalis* larvae and pupae (Lepidoptera: Crambidae). *Plant Protection*, 46(2): 181–185, 192. [胡敏, 程云霞, 张蕾, 罗礼智, 季荣, 江幸福, 2020. 草地螟幼虫和蛹的形态特征及雌雄鉴别方法. 植物保护, 46(2): 181–185, 192.]

Liu XQ, Zeng RG, 1980. The morphology of the citrus leaf miner (*Phyllocnistis citrella* Stainton) and its food plants. *Journal of South China Agricultural College*, 1(1): 113–120. [刘秀琼, 曾仁光, 1980. 柑桔潜叶蛾(*Phyllocnistis citrella* Stainton)的形态及其寄主植物. 华南农业大学学报, 1(1): 113–120.]

Liu Y, Li LL, Lu J, Zhang M, Wen XJ, Li YZ, 2015. Distinguishing the pupae and adults sexuality of *Plecoptera oculata* Moore. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 43(3): 318–319, 328. [刘怡, 李莉玲, 卢进, 张蒙, 温秀军, 李奕震, 2015. 黑肾卷裙夜蛾雌雄蛹和成虫的鉴别. 山西农业科学, 43(3): 318–319, 328.]

Mao YT, Jia RJ, Zhu CQ, Shi XH, Zhang SN, Ma T, Wen XJ, 2017. Identification of sexing and observation on reproductive system of *Phaуда flammanis*. *Journal of Zhejiang Forestry Science and Technology*, 37(6): 87–92. [茅裕婷, 贾蕊娟, 朱诚棋, 史先慧, 张胜男, 马涛, 温秀军, 2017. 朱红毛斑蛾雌雄鉴别与生殖系

- 统解剖观察. 浙江林业科技, 37(6): 87–92.]
- Meng YF, Shang SQ, Zhang YL, 2013. The morphology of the reproductive system of *Colias fieldii*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 50(3): 813–817. [孟银凤, 尚素琴, 张雅林, 2013. 橙黄豆粉蝶生殖系统形态学研究. 应用昆虫学报, 50(3): 813–817.]
- Shu B, Qin G, Wang Y, Wu QL, 2013. Occurrence characteristics and control methods of citrus leaf miner moth in Renshou county. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 36(3): 158–160. [舒彬, 秦刚, 王媛, 吴庆丽, 2013. 仁寿县柑桔潜叶蛾发生特点与防治方法. 黑龙江农业科学, 36(3): 158–160.]
- Song JY, Hu Y, Fu Q, Zheng YL, 2012. Anatomy of the inner reproductive system of male *Chilo suppressalis*. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, 53(5): 686–688. [宋俊元, 胡阳, 傅强, 郑永利, 2012. 二化螟雄虫内生生殖系统结构的解剖. 浙江农业科学, 53(5): 686–688.]
- Song XT, Yi JP, Zheng J, Xiang J, Wang ZD, 2018. New trend of citrus diseases and insect pests and its prevention and control countermeasures in Zigui county. *Hubei Plant Protection*, 167(2): 48–50, 53. [宋秀铁, 易继平, 郑军, 向进, 王治殿. 秭归县柑橘病虫害新动态与防控新对策. 湖北植保, 167(2): 48–50, 53.]
- Yi JP, Xiang J, Zhou HZ, 2019. Relationship between *Phyllocnistis citrella* and citrus canker disease. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 38(3): 32–38. [易继平, 向进, 周华众, 2019. 柑橘潜叶蛾与柑橘溃疡病的关系研究. 华中农业大学学报, 38(3): 32–38.]
- Yi JP, Yang JJ, Zhou HZ, 2021. The research of prediction and forecast technology of citrus leafminer, *Phyllocnistis citrella*. *Hubei Plant Protection*, 184(1): 50–53. [易继平, 杨俊杰, 周华众, 2021. 柑橘潜叶蛾预测预报技术研讨. 湖北植保, 184(1): 50–53.]
- Zhang J, Du Q, Wang ZY, Li QY, Wang HY, 2013. A method for the rapid sex-determination of pupae of the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2013, 50(5): 1484–1488. [张军, 杜茜, 王振营, 李启云, 汪洋洲, 2013. 一种快速鉴别亚洲玉米螟蛹雌雄的方法. 应用昆虫学报, 50(5): 1484–1488.]
- Zhao Q, Zhang YH, Liu H, Cheng DF, 2011. A method used for distinguishing between the sexes of *Scotogramma trifolii*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 48(6): 1879–1881. [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.]
- Zhao XF, Yang AD, Zhang MX, 2016. A method for the rapid sex-determination of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) pupae and adults. *Journal of Environmental Entomology*, 38(5): 1066–1070. [赵晓峰, 杨安頔, 张茂新, 2016. 一种快速鉴别甜菜夜蛾蛹及成虫雌雄的简易方法. 环境昆虫学报, 38(5): 1066–1070.]