



基于外部形态特征量化分析判别菱角水螟幼虫龄期^{*}

陈 琪^{1,2} 夏西聚¹ 黄健斌¹ 马 力^{1,2} 王 星^{1,2**}

(1. 湖南农业大学植物保护学院, 长沙 410128; 2. 植物病虫害生物学与防控湖南省重点实验室, 长沙 410128)

摘 要 【目的】 本实验拟为田间准确快速判别菱角水螟 *Parapoynx crisonalis* (Walker) 幼虫龄期提供一种新方法, 以便监测其发生规律、预测其发生时间。【方法】 本研究通过对幼虫头壳宽、复眼距、体宽和体长 4 项外部形态指标的测量, 运用 Crosby 生长法则和线性回归分析方法, 结合各项指标的频次分布进行分析。【结果】 各龄幼虫头壳宽平均值的变异系数和 Crosby 指数最小, 为判别幼虫龄期的最佳分龄指标, 幼虫期共分为 5 龄, 1~5 龄的头壳宽分别为 (0.2493 ± 0.0053) 、 (0.3454 ± 0.0018) 、 (0.5079 ± 0.0031) 、 (0.7419 ± 0.0190) 和 (1.1287 ± 0.0369) mm, 其与龄期数呈线性关系。通过实验室饲养观察菱角水螟幼虫蜕皮次数验证该虫幼虫期分为 5 个龄期。【结论】 头壳宽为判定菱角水螟幼虫龄期的最佳指标, 复眼距次之。

关键词 菱角水螟, 龄期, 头壳宽, Crosby 指数

Using quantitative analysis of external morphological characteristics to distinguish larval instars of *Parapoynx crisonalis* (Walker) (Lepidoptera: Crambidae)

CHEN Qi^{1,2} XIA Xi-Ju¹ HUANG Jian-Bin¹ MA Li^{1,2} WANG Xing^{1,2**}

(1. College of Plant Protection, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. Hunan Provincial Key Laboratory for Biology and Control of Plant Diseases and Insect Pests, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract [Objectives] To establish a method to determine the larval instars of *Parapoynx crisonalis* (Walker, 1859) and thereby improve the accuracy of monitoring this pest in the field. [Methods] Four larval morphological variables, including head capsule width, distance between the compound eyes, body width, and body length, were measured. Based on frequency analysis and frequency histograms, Crosby's law and linear regression analysis were used to choose the best morphological criteria for distinguishing larval instars. [Results] Head capsule width was the optimal criterion for distinguishing instars, since its mean coefficient of variation and Crosby ratio were the smaller than all other indices. On this basis, *P. crisonalis* has five instars. The average head capsule widths of 1st to 5th instar larvae were (0.2493 ± 0.0053) , (0.3454 ± 0.0018) , (0.5079 ± 0.0031) , (0.7419 ± 0.0190) and (1.1287 ± 0.0369) mm, respectively. [Conclusion] Head capsule width is the best morphological criterion for distinguishing the instars of *P. crisonalis*, followed by the distance between the compound eyes.

Key words *Parapoynx crisonalis* (Walker), larval instar, head capsule width, Crosby ratio

*资助项目 Supported projects: “十二五”国家科技支撑计划项目课题“水生蔬菜高效栽培及病虫害绿色防控技术研究与示范”(2012BAD27B02)

**通讯作者 Corresponding author, E-mail: wangxing@hunau.edu.cn

收稿日期 Received: 2015-11-12, 接受日期 Accepted: 2016-03-24

菱角水螟 *Parapoinx crisonalis* (Walker, 1859) 隶属于鳞翅目 Lepidoptera 草螟蛾科 Crambidae 水螟亚科 Nymphulinae 筒水螟属 *Parapoinx* Hubner (Regier *et al.*, 2012), 以幼虫取食危害寄主, 致产量锐减, 造成较大经济损失 (尤平, 2005), 其中为害菱角 *Trapa taiwanensis* L. 尤为严重 (Chen *et al.*, 2006)。近年来, 该虫危害程度日趋严重, 是当前我国水生蔬菜产业中的重要害虫 (黄国华和李建洪, 2013)。然而, 目前针对该害虫的研究尚仅停留在分类、分布和行为学等方面 (王华等, 2013), 缺乏系统研究, 导致难以提出有效且具有针对性的防控技术体系。为降低我国水生蔬菜产业特别是菱角产业的虫害损害风险, 对该虫开展系统研究, 提出有效的防控技术方法乃当前的迫切需求。

害虫的生态综合治理中, 选择正确的时机如暴食为害前期 (罗礼智等, 2008; 廉梅霞和张育平, 2011) 有效的方法如适时释放自然天敌 (王小艺等, 2010; 杨忠岐等, 2012) 等技术手段的使用均需要快速准确判断出害虫的幼虫龄期。区分幼虫龄期, 最直接的方式是观察幼虫蜕皮并计算其蜕皮次数, 然而在实际生产中该方法的可行性不强, 对隐蔽性害虫如钻蛀性、造巢性、水生性等更是难以实施。基于幼虫外部形态学特征直接分析出其龄期的方法, 已颇有研究探讨, 如张海滨等 (2011) 认为可通过额宽直接判定星天牛 *Anoplophora chinensis* (Forster) 幼虫龄期、杨美红等 (2012) 则认为可通过头壳宽直接判定榆木蠹蛾 *Holcocerus vicarius* Walker 幼虫龄期, 但主要集中于钻蛀性害虫 (魏书军等, 2006; 宗世祥等, 2006; 张海滨等, 2011; 杨美红等, 2012), 针对水生性和造巢性害虫的研究则少见报道。

本研究基于 Dyar 定律 (Dyar and Rhinebeck, 1890), 结合菱角水螟田间发生特点, 选择便于田间直接检测的头壳宽、复眼距、体宽和体长等 4 项幼虫外部形态指标, 根据现场测量获得的数据, 运用 Crosby 生长法则 (Craig, 1975) 和线性回归方法, 结合各项指标的频次分布进行数理统计分析, 以明确判别菱角水螟幼虫龄期的最佳

分龄指标并确定其龄数, 研究结果将有助于促进菱角水螟的系统研究, 为预测预报该害虫发生时间和监测其发生规律提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 供试材料

实验所用菱角水螟的蛹均采自湖南农业大学逸苑池塘, 置于养虫盒中 (直径 14 cm、高 9 cm), 待其羽化后交尾产卵、孵化获得约 160 头一龄幼虫组成饲养群体, 并于卵孵化当日测量了 32 头一日龄幼虫的各项指标, 此后每日在幼虫群体中随机抽取 10~20 头幼虫进行测量, 持续测量至幼虫全部化蛹; 重复上述实验一次, 最终测得了 378 个有效数据。实验室所测幼虫均置于上海新苗医疗器械制造有限公司生产的 GZX-150BSH-型光照培养箱内, 温度 27℃, 相对湿度 70%, 光周期为 L:D=13:11, 以新鲜苕菜叶片饲育至化蛹。与此同时, 选取同日孵化的菱角水螟幼虫 50 头, 每 6~8 h 观察记录蜕皮情况, 进行验证实验。

1.2 分龄指标的选择

结合菱角水螟田间发生特点, 本研究选择便于田间直接检测的头壳宽 (Y1: 与虫体纵轴垂直的头壳最宽处量度)、复眼距 (Y2: 与虫体纵轴垂直的两复眼外缘间的距离)、体宽 (Y3: 幼虫静止伸展状态下, 背面观, 与虫体纵轴垂直的最宽处量度) 和体长 [Y4: 幼虫静止伸展状态下, 背面观, 头部最前端沿中纵线至腹部最末端的距离] 4 个指标。

1.3 分龄指标的测量方法

菱角水螟幼虫头壳宽、复眼距、体宽和体长等指标均在体视显微镜 (Leica DFC425) 下直接测得, 测量时使其充分放平。

1.4 数据统计与分析

应用 SPSS Statistics 16.0 统计分析软件对测量的各项指标值进行频次分布分析, 并做出相应的频次分布图, 然后再根据测量值计算头壳宽、

复眼距、体宽和体长的均值、标准误差及变异系数, 基于 Crosby 生长法则 (Craig, 1975) 计算 Brooks 指数 (McDonald, 1977) 和 Crosby 指数, 变异系数小于 20%、Crosby 指数小于 10% 表示分龄准确, 符合统计上的要求; 而 Crosby 指数大于 10% 则表明分龄指标的分组不合理 (Loerch and Cameron, 1983)。最后对各指标测量数据与相应龄数进行线性和指数回归分析比较各指标分龄的合理性。根据各项指标的频次分布图、测量值的变异系数及 Crosby 指数等, 结合线性和指数回归分析的结果以明确判别幼虫龄期的最佳分龄指标。Brooks 指数、Crosby 指数按如下公式计算。

Brooks 指数 = $\frac{x_n}{x_{n-1}}$ (x_n 和 x_{n-1} 分别表示 n 龄和 $n-1$ 龄幼虫各测量指标的均值);

$$\text{Crosby 指数} = \frac{b_n - b_{n-1}}{b_{n-1}} \quad (b_n \text{ 和 } b_{n-1} \text{ 分别表示第 } n \text{ 和第 } n-1 \text{ 个 Brooks 指数})$$

2 结果与分析

2.1 菱角水蜈幼虫的龄数

本实验测得菱角水蜈幼虫 4 项外部形态学特征指标共 378 个有效数据 (分析的结果显示, 其中隶属于 1 龄、2 龄、3 龄、4 龄、5 龄幼虫的数据分别为 67 个、66 个、78 个、89 个、78 个), 分别对其进行频次分布统计分析, 并作频次分布图 (图 1), 结果表明骨化程度相对较高的头壳宽和复眼距的重叠度相对较小, 头壳宽的频次分布具明显的 5 个峰值 (图 1:A), 分别为 0.25, 0.35, 0.5, 0.75 和 1.125 mm, 复眼距 (图 1:B)

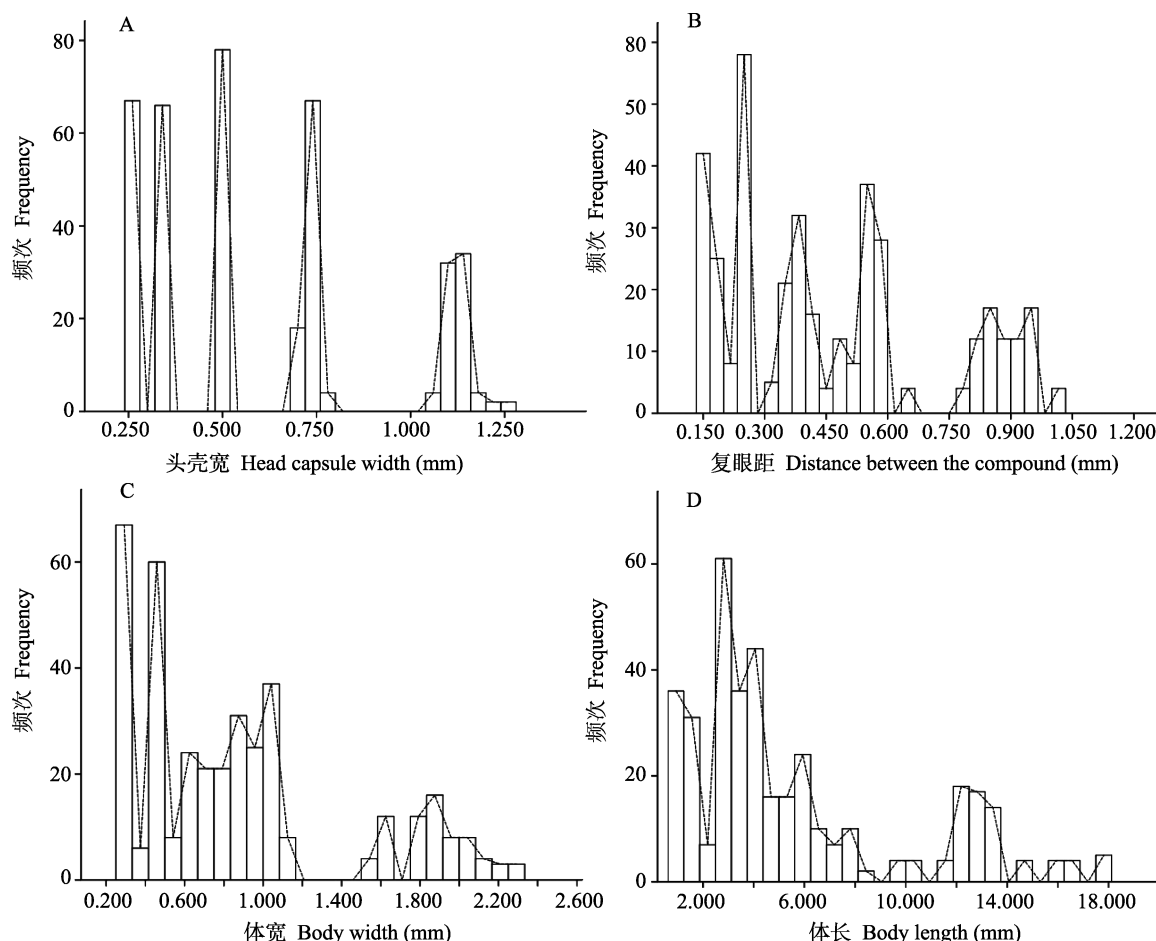


图 1 菱角水蜈幼虫头壳宽 (A)、复眼距 (B)、体宽 (C) 和体长 (D) 的频次分布
Fig. 1 Frequency distribution of head capsule width (A), distance between the compound eyes (B), body width (C) and body length (D) of *Paraponyx crisonalis*

同样具有明显的 5 个峰值, 根据 Dyar 氏法则可以断定菱角水螟幼虫分为 5 龄。

应用 Excel 软件分别对菱角水螟幼虫头壳宽、复眼距、体宽和体长 4 项指标的测量值进行均值、标准误差、变异系数、Brooks 指数及 Crosby 指数的分析, 结果显示各指标在不同龄数之间的均值存在显著差异, 其中头壳宽均值的变异系数和 Crosby 指数最小, 复眼距的次之; 体宽和体长 2 项指标的变异系数和 Crosby 指数较大(表 1)。

头壳宽、复眼距、体宽和体长这 4 项指标在菱角水螟龄数划分时, 体宽和体长这 2 项指标的重叠度相对较大, 且其变异度较大, 部分 Crosby 指数大于 10%, 不适合龄数的划分。而头壳宽和复眼距的变异系数都小于 20%, Crosby 指数均小于 10%, 符合统计上的要求, 分龄准确, 表明菱角水螟分为 5 龄是正确的, 且通过实验室饲养

菱角水螟幼虫进行验证实验得知菱角水螟幼虫分为 5 个龄期是正确可信的。

2.2 菱角水螟幼虫各龄测量指标与龄数之间的关系拟合

对菱角水螟幼虫实测 4 种指标的均值与龄数进行线性回归分析(表 2), 结果表明 4 项指标与龄数间的线性和指数拟合的决定系数均较大, 头壳宽和复眼距与龄数的拟合程度高, 体宽和体长与龄数的拟合程度次之。其中以菱角水螟幼虫头壳宽值与龄数的三次线性决定系数最大 ($R^2=0.9998$), 头壳宽值与龄数间的直线、二次线性、指数决定系数分别为 $R^2=0.9372$, $R^2=0.9984$, $R^2=0.9982$ 。进一步表明菱角水螟幼虫分为 5 龄是准确的, 头壳宽为最佳分龄指标, 复眼距次之。

表 1 菱角水螟 4 种形态结构的测量值及统计分析

Table 1 Measurements and statistics for four morphologic constructs of *Parapoynx crisonalis* larvae

指标 Variable	虫龄 Instar	样本数 Numbers of samples	均值 (mm) Mean±SD	变异系数 Coefficient of variation	Brooks 指数 Brooks index	Crosby 指数 Crosby index
头壳宽 Head capsule width	1	67	0.2494±0.0052	0.0209	-	-
	2	66	0.3454±0.0019	0.0054	1.3852	-
	3	78	0.5079±0.0031	0.0061	1.4700	0.0612
	4	89	0.7421±0.0189	0.0255	1.4611	- 0.0060
	5	78	1.1277±0.0370	0.0328	1.5197	0.0401
复眼距 Distance between the compound eye	1	67	0.1638±0.0106	0.0648	-	-
	2	66	0.2380±0.0133	0.0560	1.4524	-
	3	78	0.3789±0.0304	0.0803	1.5924	0.0964
	4	89	0.5533±0.0391	0.0707	1.4601	- 0.0830
体宽 Body width	5	78	0.8866±0.0575	0.0649	1.6024	0.0975
	1	67	0.2719±0.0103	0.0377	-	-
	2	66	0.4316±0.0100	0.0231	1.5875	-
	3	78	0.7010±0.1034	0.1474	1.6243	0.0232
	4	89	0.9660±0.0855	0.0885	1.3781	- 0.1516
体长 Body length	5	78	1.7924±0.2962	0.1652	1.8555	0.3465
	1	67	1.2231±0.1163	0.0945	-	-
	2	66	2.8123±0.1788	0.0636	2.2853	-
	3	78	3.6986±0.4435	0.1199	1.3152	- 0.4245
	4	89	5.9485±1.1265	0.1894	1.6083	0.2230
	5	78	13.1571±1.9444	0.1478	2.2118	0.3752

表 2 菱角水螟幼虫 4 种形态结构测量值回归方程及决定系数
Table 2 Regression equation and coefficient of four morphological structures of *Parapoinx crisonalis* larvae

形态结构 Morphological structures	拟合模型 Fitted model	回归方程 Regression equation	决定系数 (R^2) Coefficient determination (R^2)	显著水平 P Significance level	95%的置信区间 95% confidence limit				
					1 龄 1st instar	2 龄 2nd instar	3 龄 3rd instar	4 龄 4th instar	5 龄 5th instar
头壳宽 Head capsule width	直线 Linear	$y_1=0.2153x-0.0515$	0.9372	0.007	0.2481 - 0.2507	0.3450 - 0.3459	0.5072 - 0.5086	0.7381 - 0.7461	1.1193 - 1.1361
复眼距 Distance between the compound eye	直线 Linear	$y_2=0.1761x-0.0841$	0.9311	0.008	0.1612 - 0.1665	0.2347 - 0.2413	0.3719 - 0.3859	0.5450 - 0.5615	0.8735 - 0.8996
体宽 Body width	直线 Linear	$y_3=0.3575x-0.024$	0.893	0.015	0.2693 - 0.2744	0.4291 - 0.4340	0.6774 - 0.7246	0.9479 - 0.9841	1.7253 - 1.8596
体长 Body length	直线 Linear	$y_4=2.7004x-2.7333$	0.8333	0.031	1.2018 - 1.2594	2.7680 - 2.8564	3.5974 - 3.7998	5.7099 - 6.1872	12.7162 - 13.5981

y_1 : 头壳宽 Head capsule width (mm); y_2 : 复眼距 Distance between the compound eyes (mm); y_3 : 体宽 Body width (mm); y_4 : 体长 Body length (mm); x : 虫龄 Instar.

3 讨论

幼虫龄期研究的可靠性受到诸多因素的影响,如不同测量指标、测量部位的稳定性等直接影响到判定结果的准确性。研究表明,头壳间断式变化的强骨化结构,其宽度用于区分不同龄期的幼虫相对于体宽和体长等随日龄变化较大的数值来说要准确的多,而复眼距由于其绝对数值较小,导致个体差异放大较显著,从而误差较大,也不适合于实际应用。杨美红等(2012)报道上颚宽是判断榆木蠹蛾 *Holcocerus vicarius* Walker 幼虫龄期的有效数量特征值,同样,上颚宽存在着绝对数值较小的问题,其在实践中的应用还有待于进一步的验证。此外,在实际应用中,低龄幼虫尤其是一龄幼虫的头壳宽绝对数值也很小,难以准确测量,在该类场合,结合体长等相对数值较大的数量特征指标进行综合分析,有利于提高龄期判定的准确性。本研究的样本收集方法、分龄指标的选定和龄数划分的分析方法等将为其它水生性害虫幼虫龄期的确定提供资讯。通常,不适宜温湿度或者不同营养条件下往往导致幼虫龄期发生很大的变化,相应的各个龄期头壳宽度也会有变化。然而,本研究仅考虑了适宜温湿度条件下喂食各种叶龄的寄主植物叶片的情

况,并没有严格考证不同营养或特殊温湿度对幼虫头壳发育的影响。在特定营养条件或极端温湿度条件下,幼虫生长发育过程中其头壳宽度与龄期是否存在稳定的相关性还有待进一步研究。

参考文献 (References)

Chen FQ, Song SM, Wu CS, 2006. A review of the genus *Parapoinx* Hübner in China (Lepidoptera: Pyralidae: Acentropinae). *Aquatic Insects*, 28(4): 291–303.

Craig DA, 1975. The larvae of Tahitian Simuliidae (Diptera: Nematocera). *Journal of Medical Entomology*, 12(4): 463–476.

Dyar AH, Rhinebeck NY, 1890. The number of molts of lepidopterous larvae. *Psyche: A Journal of Entomology*, (5): 420–422.

Loerch CR, Camreon EA, 1983. Determination of larval instars of the bronze birch borer, *Agrilus anxius* (Coleoptera: Buprestidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 76(6): 948–952.

McDonald G, Smith IR, Shelden GP, 1977. Identification of instars of *Culex annulirostris* Skuse (Diptera: Culicidae). *Journal of the Australian Entomological Society*, 16(4): 359–360.

Regier JC, Mitter C, Solis M, Hayden JE, Landry B, Nuss M, Simonsen TJ, Yen SH, Zwick A, Cummings MP, 2012. A molecular phylogeny for the pyraloid moths (Lepidoptera: Pyraloidea) and its implications for higher-level classification. *Systematic Entomology*, 37(4): 635–656.

Huang GH, Li JH, 2013. Color Handbook of Insect Pests of Aquatic

- Vegetables in China. Wuhan: Hubei Science and Technology Press. 109–111. [黄国华, 李建洪主编, 2013. 中国水生蔬菜主要害虫图谱. 武汉: 湖北科学技术出版社. 109–111.]
- Luo LZ, Liu DH, Zhang L, 2008. Determination of food consumption, head width, body length, and body weight of the larvae of the meadow moth, *Loxostege sticticalis*. *Plant Protection*, 34(6): 32–36. [罗礼智, 刘大海, 张蕾, 2008. 草地螟幼虫取食量、头宽、体长及体重的测定. 植物保护, 34(6): 32–36.]
- Lian MX, Zhang YP, 2011. The ingestion and defecation of the *Dendrolimus suffusus illustratus* larvae. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 48(4): 982–985. [廉梅霞, 张育平, 2011. 明纹柏松毛虫各龄幼虫取食量和排粪量. 应用昆虫学报, 48(4): 982–985.]
- Wang XY, Yang ZQ, Tang YL, Jiang J, Gao Chun, Liu YC, Zhang XW, 2010. Parasitism of *Sclerodennus pupariae* (Hymenoptera: Bethyridae) on the young larvae of *Massicus raddei* (Coleoptera: Cerambycidae). *Acta Entomologica Sinica*, 53(6): 675–682. [王小艺, 杨忠岐, 唐艳龙, 姜静, 高纯, 刘云程, 张显文, 2010. 白蜡吉丁肿腿蜂对栗山天牛低龄幼虫的寄生作用. 昆虫学报, 53(6): 675–682.]
- Wang H, Liu YY, Wang X, 2013. Morphological characteristics of *Parapoynx crisonalis* (Walker, 1859) (Lepidoptera: Crambidae) and its control countermeasures. *Journal of Changjiang Vegetables*, 27(18): 107–109. [王华, 刘媛媛, 王星, 2013. 菱角水螟的形态学特征及防控策略. 长江蔬菜, 27(18): 107–109.]
- Wei SJ, Zheng HH, HuangFu WG, Shi ZH, Chen XX, 2006. Division of larval instars of the citrus borer, *Agrilus auriventris* Saunders (Coleoptera: Buprestidae). *Acta Entomologica Sinica*, 49(2): 302–309. [魏书军, 郑宏海, 皇甫伟国, 施祖华, 陈学新, 2006. 柑桔爆皮虫幼虫龄期的划分. 昆虫学报, 49(2): 302–309.]
- Yang ZQ, Li ML, Lei Q, Wang XY, 2012. Effects of temperature on development and reproduction of *Dastarcus helophoroides* (Coleoptera: Bothriideridae). *Chinese Journal of Biological Control*, 28(1): 9–14. [杨忠岐, 李孟楼, 雷琼, 王小艺, 2012. 温度对花绒寄甲发育和生殖的影响. 中国生物防治学报, 28(1): 9–14.]
- Yang MH, Zhang JT, Zong SX, Luo YQ, Niu HL, Zhang B, 2012. Determination of the larval instar number of the carpenter moth *Holcocerus vicarius* (Lepidoptera: Cossidae). *Acta Entomologica Sinica*, 55(6): 710–718. [杨美红, 张金桐, 宗世祥, 骆有庆, 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.]
- You P, 2005. Aquatic Lepidoptera: Nymphulinae (Pyrilidae). *Chinese Bulletin of Entomology*, 42(5): 595–598. [尤平, 2005. 水生鳞翅类——螟蛾科水螟亚科. 昆虫知识, 42(5): 595–598.]
- Zhang HB, Wang JW, Zhu XF, Chen XX, 2011. Determination of larval instars of citrus long-horned beetle, *Anoplophora chinensis* (Coleoptera: Cerambycidae). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 48(3): 688–694. [张海滨, 王建伟, 朱小峰, 陈学新, 2011. 星天牛幼虫龄期的划分. 应用昆虫学报, 48(3): 688–694.]
- Zong SX, Luo YQ, Xv ZC, Wang T, 2006. Preliminary study on different larval instars of seabuckthorn carpenter moth, *Holcocerus hippophaecus*. *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.]