

基于不同特征指标的黄脊竹蝗 若虫龄期判别*

李志红^{1,2**} 柳珊珊¹ 张 威^{1***} 李 妍¹ 舒金平¹ 王浩杰¹

(1. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 杭州 311400; 2. 南京林业大学, 南京 210037)

摘 要 【目的】基于黄脊竹蝗 *Ceracris kiangsu* 若虫不同龄期各形态特征的差异, 探讨黄脊竹蝗若虫期的最佳分龄指标, 明确 Dyar 法则和 Crosby 法则在黄脊竹蝗若虫龄期划分上的适用性, 为直翅目昆虫若虫龄期划分提供理论依据。【方法】自竹蝗卵孵化后, 单头饲养于养虫室内, 测定每一龄黄脊竹蝗若虫的体长、体重、头长、头宽、翅芽长、翅芽宽、翅芽面积及触角长 8 个形态指标, 采用频次分布、Brooks 指数、Crosby 指数以及回归拟合方法筛选出最佳的分龄指标, 同时通过逐步判别分析法构建龄期判别函数。【结果】黄脊竹蝗若虫有 5 龄, 雌若虫和雄若虫的龄数相同; 各形态指标频次分布显示头长和头宽呈现 5 个集中分布区, 翅芽宽和翅芽面积有 3 个集中分布区。Brooks 指数在 1.09 和 3.86 之间, 呈现出随着虫龄增大而减小的趋势。Crosby 指数均大于 0.1, 黄脊竹蝗若虫形态发育特征不符合 Dyar 法则和 Crosby 法则。8 个形态指标和虫龄间线性、多项式拟合度较好。线性拟合中, 头宽与龄期的决定系数最大 ($R^2 = 0.9335$); 多项式拟合中, 翅芽长与龄期的决定系数最大 ($R^2 = 0.9789$)。【结论】头宽是黄脊竹蝗若虫分龄的有效指标, 头长和体长次之, 黄脊竹蝗分龄指标适合在监测与防治中应用。

关键词 蝗虫; 黄脊竹蝗; 若虫; 形态特征; 龄期; 频次分布

Identification of the nymphal instars of the yellow-spined bamboo locust, *Ceracris kiangsu* (Orthoptera: Arcypteridae), based on different morphological characteristics

LI Zhi-Hong^{1,2**} LIU Ying-Shan¹ ZHANG Wei^{1***} LI Yan¹
SHU Jin-Ping¹ WANG Hao-Jie¹

(1. Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Hangzhou 311400, China;

2. Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China)

Abstract 【Objectives】To determine the optimal morphological characteristics for identifying nymphal instars of the yellow-spined bamboo locust, *Ceracris kiangsu* (Orthoptera: Arcypteridae), examine the applicability of Dyar and Crosby rules to this species, and provide a theoretical basis for determining the nymphal instars of Orthopterans based on the variability of morphological characteristics of different developmental stages. 【Methods】Nymphs were reared in an insectary after hatching. Eight morphological variables, including body length, body weight, head length, head width, wing bud length, wing bud width, wing bud area and antennal length, were measured and analyzed statistically for each instar. 【Results】Five instars were distinguished without gender differences. Five distribution peaks were apparent based on head length and head width, and three concentrated distribution areas for wing bud width and wing bud area were apparent after frequency analysis. The Brooks's ratio ranged from 1.09 to 3.86, and decreased with increasing instar. The Crosby's ratio was over 0.1. The growth dynamics of morphological variables were not consistent with Dyar and Crosby rules. The relationship

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金 (31670660)

**第一作者 First author, E-mail: lizhihong927@126.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: zwlzh@126.com

收稿日期 Received: 2022-01-04; 接受日期 Accepted: 2022-05-06

between nymph instars and the eight measured morphological variables closely approximated a polynomial regression. The linear coefficient of determination of head width had the maximum value $R^2 = 0.933\ 5$, and the quadratic and cubic coefficients of determination of wing bud length had the maximum value $R^2 = 0.978\ 9$. **[Conclusion]** Head width is the optimal variable for distinguishing the nymphal instars of *C. kiangsu*, followed by head length and body length. All three variables can be used in pest monitoring and control.

Key words locust; *Ceracris kiangsu*; nymph; morphological characteristics; instar; frequency distribution

幼虫龄数和龄期是昆虫发育生物学研究的重要内容(王小艺等, 2012), 准确区分和判定幼虫龄期, 可为害虫预测预报及制定防控策略提供科学依据, 在生产防治上具有重要意义(Delbac *et al.*, 2010; Cen *et al.*, 2015)。如亚洲小车蝗 *Oedaleus decorus asiaticus* 若虫在 3 龄阶段食量较小, 对农药抵抗力较弱, 是防治的关键时期(周晓榕等, 2012)。确定幼虫龄数和准确区分幼虫龄期最直接的方式是观察幼虫的蜕皮次数(Farmer, 1973; Schmidt *et al.*, 1977), 但该方法针对一些隐蔽性、迁飞性、水生性昆虫及龄数多、难饲养的昆虫难以实施(Fink, 1980)。分类学家 Brooks (1886) 测量虾蛄 *Lysiosquilla minuta* 幼体时发现其体长在逐个阶段之间生长率趋于恒定, 提出了 Brooks 指数(Brooks, 1886)。随后, Dyar (1890) 基于 28 种鳞翅目幼虫观测发现头壳宽度随着龄期增长呈一定几何级数增长, 提出了 Dyar 法则。Brooks 指数和 Dyar 法则在较多鳞翅目及鞘翅目昆虫幼虫分龄研究中得到了应用(Sukovata, 2019; Chen *et al.*, 2021)。Crosby 于 1973 年提出了 Crosby 生长法则用于幼虫分龄, 认为若 2 个相邻 Brooks 指数之间的差异大于 10%, 则 2 个龄期之间有龄期被遗漏或者 Dyar 法则不适用(Crosby, 1973; Craig, 1975)。但有研究表明并非所有昆虫形态发育都符合 Dyar 及 Crosby 生长法则(高勇等, 2013; Lackmann and Butler, 2018), 因此有学者依据幼虫特性选择体长和体宽(王小艺等, 2005; 王芳等, 2016)、上颚长和上颚宽(朱利明等, 2017)、口上片宽度(魏书军等, 2006)、触角窝直径(张海滨等, 2011)、口钩长和头咽骨长(周小妹等, 2017)及幼虫所排虫粪大小(张祖兵等, 2020)等不同的特征指标进行幼虫分龄的研究。

黄脊竹蝗 *Ceracris kiangsu* 又名黄脊雷箠蝗,

隶属于直翅目 Orthoptera 网翅蝗科 Arcypteridae 竹蝗属 *Ceracris*, 是我国南方最为主要的竹林害虫(Yu *et al.*, 2011)。黄脊竹蝗若虫和成虫取食竹叶, 造成受害竹林如同火烧一般, 减产显著, 因其暴发频繁、为害时间长、取食量大及防治困难等原因而被称为“中国第二大竹林害虫”(滕莹等, 2012; Li *et al.*, 2020)。2020 年 7 月, 黄脊竹蝗更是从老挝入侵我国云南南部地区, 并形成蝗灾, 造成巨大损失。专家预测, 黄脊竹蝗在未来几年有再度大暴发的可能, 防控形势严峻(卓富彦等, 2020)。目前, 依据黄脊竹蝗发育时期, 对其防治可分为地面防治和竹上防治两个阶段, 各阶段采取的措施不同, 但以若虫期防治最为关键有效。同时, 黄脊竹蝗若虫的发育进度及种群密度是研判竹蝗灾情及制定防治策略的前提, 因此, 精准识别黄脊竹蝗若虫龄期是林间监测和防治的基础。目前, 国内外对黄脊竹蝗若虫分龄方法的研究未见详细的报道。因此, 本研究在正确分龄的前提下, 选取了体长、头宽及翅芽长等 8 个指标进行黄脊竹蝗若虫龄期的鉴定, 并应用 Brooks 指数和 Crosby 指数加以验证, 旨在明确 Dyar 法则和 Crosby 法则在黄脊竹蝗龄期划分上的适用性, 以筛选出最佳的分龄指标, 为直翅目昆虫若虫龄期划分提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 黄脊竹蝗若虫的收集

2021 年 2 月, 在湖南桃江黄脊竹蝗发生区($28^{\circ}16'43''\text{N}$, $111^{\circ}59'10''\text{E}$)采集虫卵, 于浙江省杭州市富阳区亚热带林业研究所养虫室内孵化, 养虫室平均温度(25 ± 2) $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 $60\%\pm 10\%$ 。黄脊竹蝗卵鞘置于无菌湿润土壤上,

用杂草覆盖后, 每日进行喷水保湿处理, 待卵孵化后, 用新鲜毛竹 (2 年生盆栽毛竹苗, 大棚内自然化管理) 于养虫笼 (50 cm×30 cm×30 cm) 单头饲养, 每隔 3 d 取一次样, 收集各龄若虫 ($n>30$), 并放入 -20 °C 冰箱备用。

1.2 若虫分龄指标的选择

参考前人 (王小艺等, 2005; 张海滨等, 2011; 高勇等, 2013; 王芳等, 2016) 有关昆虫幼虫分龄的指标, 根据黄脊竹蝗若虫的身体特性, 选取体长、体重、头长、头宽、翅芽长、翅芽宽、翅芽面积及触角长 8 个参数作为黄脊竹蝗若虫分龄的指标。

1.3 若虫分龄指标的测量方法

将待测黄脊竹蝗若虫从 -20 °C 冰箱中取出, 待其自然回软后, 用吸水纸擦干体表的凝结水, 将若虫背面向上放平后固定。体长采用电子

游标卡尺 (精度为 0.01 mm) 测量从头部最前端到腹部末端的直线距离, 每头若虫体长测量 3 次并取平均值; 选取虫体完整无损伤若虫, 用电子天平 (梅特勒, 瑞士, 精度为 0.000 1 g) 测量体重, 每头若虫体重测量 3 次取平均值; 头长、头宽、翅芽长、翅芽宽、翅芽面积及触角长 6 个分龄指标利用超景深显微系统 (基恩士 VHX-5000, 日本) 将单个供测黄脊竹蝗若虫的待测部位放大 20、30 或者 50 倍进行拍照, 并应用系统软件测量各指标的数值。头长为头部最前端到末端 (前胸背板中线边缘) 的直线距离 (图 1: B); 头宽测量与虫体纵轴线垂直的头部最宽处直线距离 (图 1: B); 翅芽长测量后翅芽基部与端部之间的平行距离 (图 1: C); 翅芽宽测量虫体后翅芽最内侧与最外侧之间的平行距离 (图 1: C); 翅芽面积自动测量描点划线后包围的整个后翅芽的面积 (图 1: D); 触角长测量从鞭节最前沿到柄节末端的直线距离 (图 1: A)。

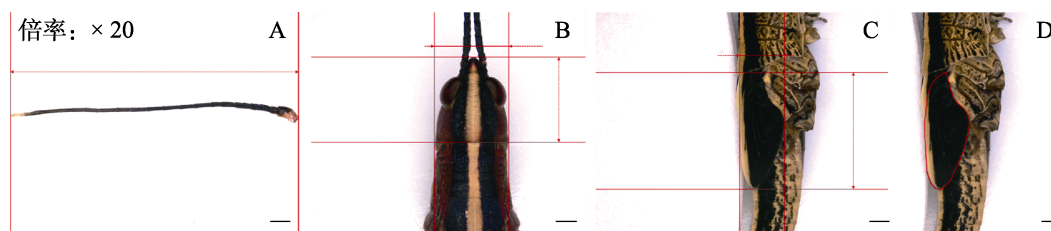


图 1 黄脊竹蝗若虫部分分龄指标测量示意图

Fig. 1 Measurement of indexes used for determining nymph instar in *Ceracris kiangsu*

A. 触角; B. 头长和头宽; C. 翅芽长和翅芽宽; D. 翅芽面积。标尺长度=1 000 μm。图 2, 图 3 同。
A. Antenna; B. Head length and width; C. Wing bud length and width; D. Wing bud area. Scale bars = 1 000 μm.
The same as Fig. 2 and Fig. 3.

1.4 数据处理

所有数据均通过 Origin 2019b 和 SPSS Statistics 26.0 分析, 得到频次分布图和龄期与各指标的关系拟合结果; 根据 Dyar 定律和 Crosby 生长法则来计算 Brooks 值和 Crosby 值, 并验证所选指标的合理性; 将虫龄与各指标数据进行线性、多项式 (二次和三次) 及指数拟合, 比较 8 个不同指标之间的差异, 选出黄脊竹蝗若虫分龄的最佳指标。

Brooks 指数= X_N/X_{N-1} (X_N 和 X_{N-1} 分别表示第

n 龄和第 $n-1$ 龄若虫所选指标的测量平均值)。

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

2 结果与分析

2.1 黄脊竹蝗若虫分龄指标测量

黄脊竹蝗若虫体长和体重等 8 个测量指标均随着龄期的增加而显著增加, 8 个指标的变幅均存在一定的重叠 (表 1)。黄脊竹蝗若虫生长发育过程中头部变化显著, 各龄若虫头部大小差

异明显, 头部颜色随着龄期的增加而变深, 背部中线随着龄期的增加而清晰 (图 2)。从图 3 可以看出, 1 龄和 2 龄若虫的翅芽发育不明显 (背板两侧向后突出), 自 3 龄若虫开始, 翅芽长、翅芽宽以及翅芽面积的大小随着龄期的增加而增长。

表 1 黄脊竹蝗若虫 8 种形态结构测量值数据统计
Table 1 Measurements of eight morphological structures of *Ceracris kiangsu* nymph

指标 Variables	龄期 Instars	变幅 Class limits	均值±标准误 Mean ± SE	样本数 Number of samples	变异系数 Coefficient of variation	Brooks 指数 Brooks's ratio	Crosby 指数 Crosby's ratio
体长 (mm) Body length (mm)	1 龄 1st instar	6.79-12.73	9.44±0.26	43	0.18	-	-
	2 龄 2nd instar	10.50-17.19	13.86±0.22	51	0.11	1.47	-
	3 龄 3rd instar	15.19-22.26	19.85±0.30	44	0.10	1.43	- 0.03
	4 龄 4th instar	22.26-27.26	24.12±0.28	29	0.06	1.22	- 0.15
	5 龄 5th instar	23.50-34.36	27.81±0.49	34	0.10	1.15	- 0.05
体重 (g) Body weight (g)	1 龄 1st instar	0.01-0.05	0.02±0.00	44	0.37	-	-
	2 龄 2nd instar	0.02-0.13	0.07±0.00	38	0.39	2.90	-
	3 龄 3rd instar	0.09-0.24	0.15±0.01	33	0.29	2.18	- 0.25
	4 龄 4th instar	0.13-0.31	0.23±0.01	25	0.20	1.57	- 0.28
	5 龄 5th instar	0.22-0.59	0.35±0.02	27	0.29	1.51	- 0.04
头长 (mm) Head length (mm)	1 龄 1st instar	1.69-2.88	2.31±0.05	40	0.13	-	-
	2 龄 2nd instar	2.38-3.73	2.92±0.05	48	0.11	1.27	-
	3 龄 3rd instar	3.23-4.30	3.92±0.04	40	0.06	1.34	0.06
	4 龄 4th instar	3.38-3.84	4.39±0.06	27	0.07	1.12	- 0.17
	5 龄 5th instar	4.39-5.30	4.91±0.04	37	0.05	1.12	0.00
头宽 (mm) Head width (mm)	1 龄 1st instar	1.73-2.37	1.96±0.03	40	0.09	-	-
	2 龄 2nd instar	2.07-2.93	2.40±0.04	48	0.10	1.22	-
	3 龄 3rd instar	2.44-3.70	3.39±0.04	40	0.06	1.42	0.16
	4 龄 4th instar	3.25-4.50	3.87±0.05	27	0.05	1.13	- 0.20
	5 龄 5th instar	3.96-5.11	4.48±0.04	37	0.06	1.16	0.02
翅芽长 (mm) Wing bud length (mm)	1 龄 1st instar	-	-	-	-	-	-
	2 龄 2nd instar	-	-	-	-	-	-
	3 龄 3rd instar	2.52-3.30	2.97±0.02	77	0.06	-	-
	4 龄 4th instar	5.85-7.82	6.89±0.06	51	0.06	2.32	-
	5 龄 5th instar	7.03-8.55	7.69±0.05	60	0.05	1.12	- 0.52
翅芽宽 (mm) Wing bud width (mm)	1 龄 1st instar	-	-	-	-	-	-
	2 龄 2nd instar	-	-	-	-	-	-
	3 龄 3rd instar	0.96-1.79	1.49±0.02	77	0.12	-	-
	4 龄 4th instar	1.74-3.00	2.32±0.04	51	0.14	1.56	-
	5 龄 5th instar	2.55-3.61	2.94±0.03	60	0.08	1.26	- 0.19

续表 1 (Table 1 continued)

指标 Variables	龄期 Instars	变幅 Class limits	均值±标准误差 Mean ± SE	样本数 Number of samples	变异系数 Coefficient of variation	Brooks 指数 Brooks's ratio	Crosby 指数 Crosby's ratio
翅芽面积 (mm ²) Wing bud area (mm ²)	1 龄 1st instar	-	-	-	-	-	-
	2 龄 2nd instar	-	-	-	-	-	-
	3 龄 3rd instar	0.02-0.04	0.03±0.00	77	0.13	-	-
	4 龄 4th instar	0.07-0.15	0.11±0.00	51	0.16	3.86	-
	5 龄 5th instar	0.12-0.18	0.15±0.01	60	0.09	1.35	- 0.65
触角长 (mm) Antennal length (mm)	1 龄 1st instar	4.34-7.67	5.98±0.15	35	0.15	-	-
	2 龄 2nd instar	6.19-11.42	7.88±0.14	59	0.14	1.32	-
	3 龄 3rd instar	11.08-15.83	13.02±0.12	72	0.08	1.65	0.26
	4 龄 4th instar	13.75-17.79	16.11±0.15	39	0.06	1.24	- 0.25
	5 龄 5th instar	15.33-20.10	17.49±0.17	49	0.07	1.09	- 0.12

由于 1 龄和 2 龄翅芽发育不明显,翅芽长、翅芽宽和翅芽面积从 3 龄若虫开始统计。Wing buds of the nymph at the 1st and 2nd instar are invisible, the wing bud length, wing bud width and wing bud area are measured from the 3rd instar.



图 2 黄脊竹蝗不同龄期若虫头部形态对比

Fig. 2 Comparison of the head morphology of the nymph of *Ceracris kiangsu* at different growth stage



图 3 黄脊竹蝗不同龄期若虫翅芽形态对比

Fig. 3 Comparison of the wing bud morphology of the nymph of *Ceracris kiangsu* at different growth stages

2.2 变异系数、Brooks 指数和 Crosby 指数分析

8 个分龄指标的变异系数头宽、翅芽长较小,体重的变异系数最大(表 1)。体重各龄期的变异系数均大于 0.15,体长在 1 龄及翅芽面积在 4 龄的变异系数大于 0.15,其他分龄指标的变异系数在各龄期均小于 0.15,体重相较于其他分龄指标的离散程度偏大。

表 1 中, Brooks 指数最小为 1.09,最大为 3.86,波动较大,但总体呈现出随着龄期增大而减小的趋势, Crosby 指数基本均大于 0.1。

8 个指标的 Crosby 指数基本均大于 0.1, Crosby 指数指出,如果其数值(绝对值)大于 0.1,表明分龄指标的分组不合理,不符合统计上的要求。在选择黄脊竹蝗若虫分龄指标时, Brooks 指数和 Crosby 指数不适合。

2.3 频次分布图分析

头长、头宽、翅芽宽以及翅芽面积在 8 个分龄指标的频次分布图中分龄结果较好(图 4)。头长以及头宽的频次分布明显具有 5 个峰(图 4:C, D),体长的频次分布具有 4 个峰(图 4:A),

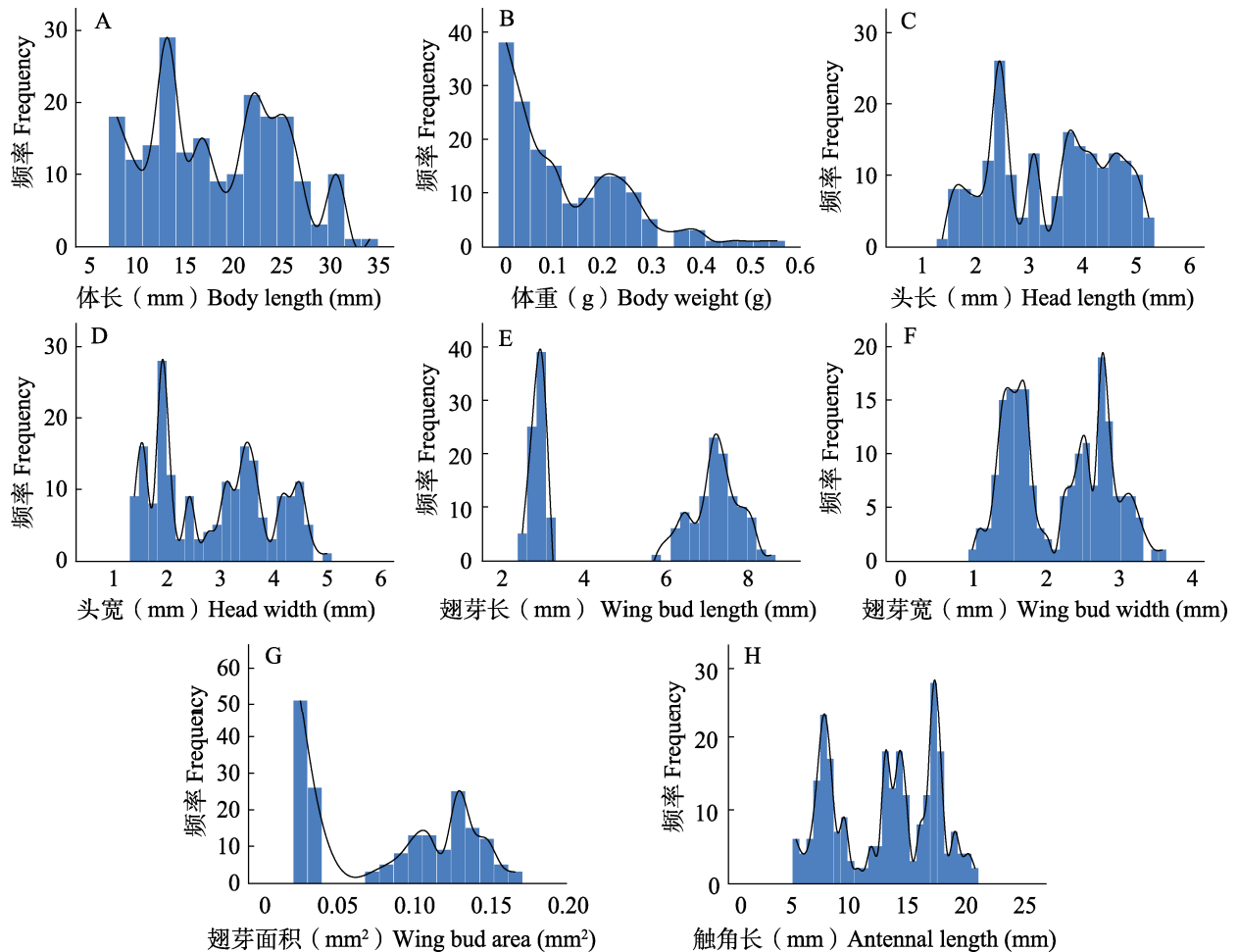


图4 黄脊竹蝗若虫各分龄指标频次分布

Fig. 4 Frequency histogram of indexes used for determining nymphal instar of *Ceracris kiangsu*

A. 体长; B. 体重; C. 头长; D. 头宽; E. 翅芽长; F. 翅芽宽; G. 翅芽面积; H. 触角长。

A. Body length; B. Body weight; C. Head length; D. Head width; E. Wing bud length; F. Wing bud width;

G. Wing bud area; H. Antennal length.

体重、翅芽宽、翅芽面积以及触角长具有3个峰(图4: B, F, G, H), 而翅芽长的频次分布较为聚集, 具有2个峰(图4: E)。

2.4 回归分析

黄脊竹蝗若虫各测量指标与龄期之间的关系拟合结果表明: 二次、三次多项式拟合模型最好, 其次是线性拟合模型, 指数拟合模型最差(表2, 图5)。指数模型的 R^2 在4种拟合模型中最小, 只有头宽的决定系数($R^2 = 0.9150$)大于0.9; 在三次多项式拟合模型中翅芽长的决定系数最大($R^2 = 0.9789$); 在直线拟合模型中, 8个指标与龄期存在显著性的线性关系, 其中体长、头长、头宽、翅芽面积及触角长的决定系数

均大于0.9, 其中头宽与龄期的决定系数最大($R^2 = 0.9335$)。

2.5 黄脊竹蝗若虫龄期判别函数

基于8个分龄指标, 通过逐步判别分析方法构建了黄脊竹蝗若虫龄期判别函数。根据翅芽发育有无, 将判别分析分为1-2龄、3-5龄两个部分, 同时进行共线性检验, VIF值均小于10, 结果如下:

1-2龄: 逐步判别分析的结果得出判别函数特征值为6.341, 典型相关系数为0.929, 覆盖了所用方差(100%)。同时, Wilks λ 值说明黄脊竹蝗1-2龄在形态上具有明显的差异性(表3), 98%的准确判别率也进一步证实了这种差异性。

表 2 黄脊竹蝗若虫各测量指标与龄期之间的关系拟合结果

Table 2 Regression relationship between instars and morphological indexes of *Ceracris kiangsu*

形态指标 Morphological indexes	拟合模型 Fitted model	回归方程 Regression equation	决定系数 R^2 Coefficient of determination
体长 Body length	直线 Linear	$y = 4.723\ 1x + 4.837\ 4$	0.913 8
	二次 Quadratic	$y = -0.210\ 8x^2 + 5.978\ 4x + 3.373\ 3$	0.916 4
	三次 Cubic	$y = -0.204\ 8x^3 + 1.606\ 4x^2 + 1.300\ 8x + 6.674\ 2$	0.918 9
	指数 Exponential	$y = e^{2.166\ 3+0.241\ 1x}$	0.879 2
体重 Body weight	直线 Linear	$y = 0.080\ 0x - 0.083\ 6$	0.820 1
	二次 Quadratic	$y = 0.010\ 8x^2 + 0.014\ 7x - 0.007$	0.841 2
	三次 Cubic	$y = -0.000\ 4x^3 + 0.014\ 8x^2 + 0.003\ 9x + 0.001$	0.841 2
	指数 Exponential	$y = e^{-3.655\ 7+0.516\ 4x}$	0.823 6
头长 Head length	直线 Linear	$y = 0.670\ 3x + 1.540\ 6$	0.903 0
	二次 Quadratic	$y = -0.050\ 5x^2 + 0.994\ 5x + 1.120\ 8$	0.910 3
	三次 Cubic	$y = -0.037\ 9x^3 + 0.308\ 9x^2 - 0.012\ 8x + 1.921\ 8$	0.914 3
	指数 Exponential	$y = e^{0.708\ 8+0.176\ 5x}$	0.875 6
头宽 Head width	直线 Linear	$y = 0.654\ 4x + 1.059\ 8$	0.933 5
	二次 Quadratic	$y = -0.011\ 3x^2 + 0.729\ 1x + 0.958\ 6$	0.933 9
	三次 Cubic	$y = -0.044\ 1x^3 + 0.421x^2 - 0.530\ 4x + 2.014\ 1$	0.939 8
	指数 Exponential	$y = e^{0.471\ 8+0.199\ 4x}$	0.915 0
翅芽长 Wing bud length	直线 Linear	$y = 2.411\ 7x - 4.853\ 5$	0.878 0
	二次 Quadratic	$y = -1.564\ 2x^2 + 16.123x - 33.767$	0.978 9
	三次 Cubic	$y = -1.564\ 2x^2 + 16.123x - 33.767$	0.978 9
	指数 Exponential	$y = e^{-0.0407+0.3949x}$	0.807 5
翅芽宽 Wing bud width	直线 Linear	$y = 0.728\ 6x - 1.036\ 8$	0.867 8
	二次 Quadratic	$y = -0.111\ 9x^2 + 1.731\ 5x - 3.203\ 6$	0.873 4
	三次 Cubic	$y = -0.111\ 9x^2 + 1.731\ 5x - 3.203\ 6$	0.873 4
	指数 Exponential	$y = e^{-0.689\ 2+0.324\ 2x}$	0.849 8
翅芽面积 Wing bud area	直线 Linear	$y = 0.059\ 4x - 0.181$	0.919 7
	二次 Quadratic	$y = -0.020\ 7x^2 + 0.249\ 5x - 0.601\ 7$	0.950 4
	三次 Cubic	$y = -0.020\ 7x^2 + 0.249\ 5 - 0.601\ 7$	0.950 4
	指数 Exponential	$y = e^{-5.361\ 9+0.619\ 9x}$	0.845 2
触角长 Antennal length	直线 Linear	$y = 3.138x + 0.481\ 2$	0.900 7
	二次 Quadratic	$y = -0.259\ 4x^2 + 5.104\ 3x - 2.801\ 5$	0.910 4
	三次 Cubic	$y = -0.436\ 5x^3 + 4.592\ 5x^2 - 11.426\ 0x + 14.150\ 0$	0.937 2
	指数 Exponential	$y = e^{1.567\ 4+0.238\ 2x}$	0.850 9

翅芽长、翅芽宽及翅芽面积不满足三项式拟合条件, 未能拟合。The wing bud length, wing bud width and wing bud area did not meet conditions.

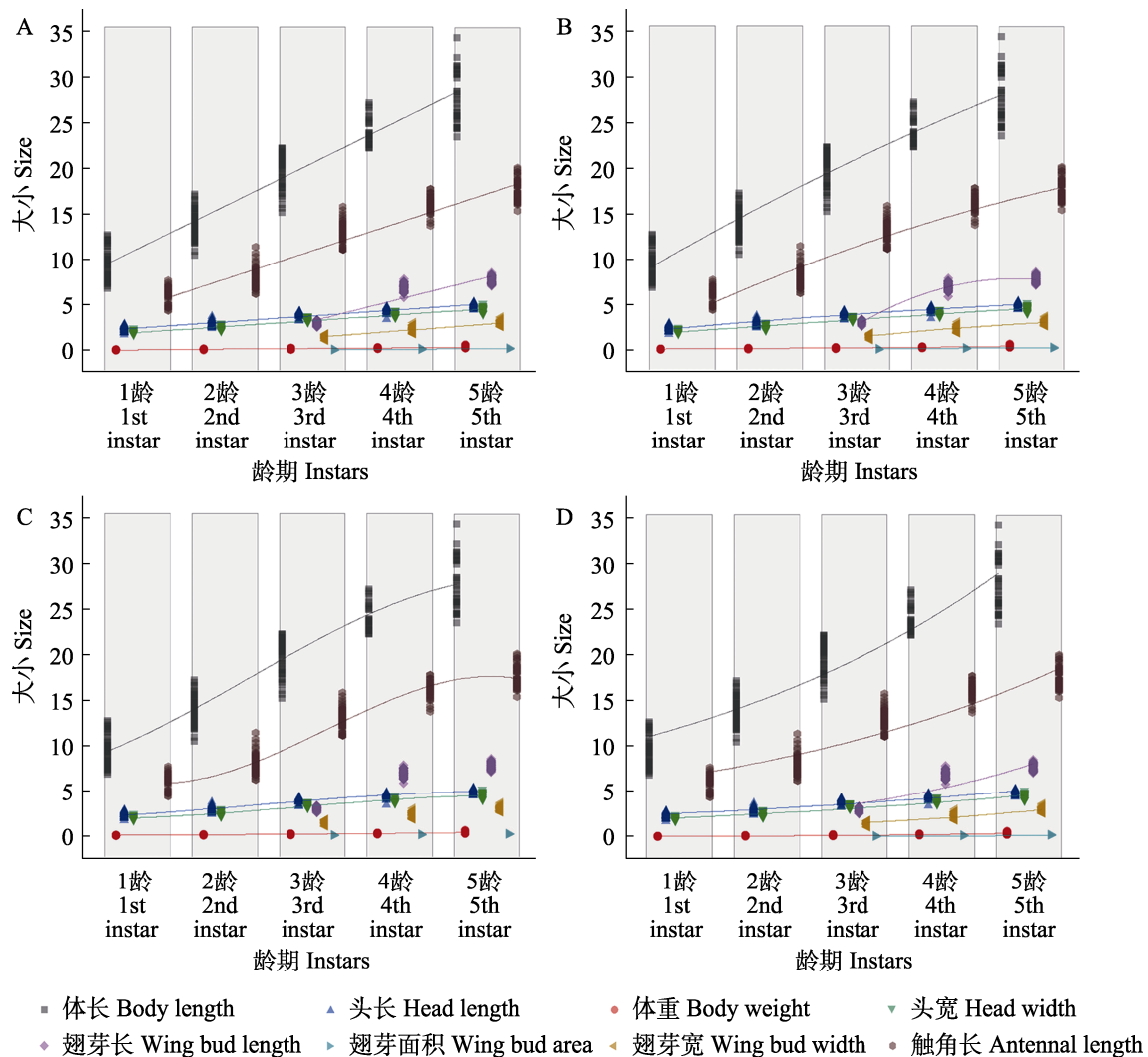


图 5 黄脊竹蝗若虫分龄指标与龄期之间的关系拟合结果
Fig. 5 Regression analysis between nymphal instars and morphological indexes of *Ceracris kiangsu*

A. 直线拟合; B. 二项式拟合; C. 三项式拟合; D. 指数拟合。
A. Linear fitting; B. Quadratic fitting; C. Cubic fitting; D. Exponential fitting

表 3 1-2 龄 Wilks λ 值
Table 3 1st-2nd instar Wilks λ value

函数 Function	Wilks λ 值 Wilks λ value	卡方检验 Chi-square	自由度 df Degree of freedom	P 值 P value
1	0.136	91.70	4	0.000

判别函数方程为：1 龄=3.786×体长+196.581×体重+58.437×头宽+8.249×触角长 - 103.676；2 龄=5.536×体长 +365.114×体重 +73.161×头宽 +10.210×触角长 - 177.130。头长在逐步判别分析被移除。

3-5 龄：逐步判别分析的结果得出判别函数特征值为 59.850，典型相关系数为 0.992，

覆盖了所用方差（97%）。同时，Wilks λ 值说明黄脊竹蝗 3-5 龄在形态上具有明显的差异性（表 4），100%的准确判别率也进一步证实了这种差异性。判别函数方程：3 龄=7.466×体长+64.371×头长+110.859×头宽+27.562×翅芽长+29.906×翅芽宽 - 449.939；4 龄=9.288×体长+68.844×头长+134.058×头宽+62.994×翅芽长+

41.863×翅芽宽 - 790.835; 5 龄=10.927×体长+77.921×头长+154.487×头宽+69.832×翅芽长+52.951×翅芽宽 - 1 040.596。体重、触角长在逐步判别分析被移除, 翅芽面积和翅芽长存在共线性, 已删除。

2.6 黄脊竹蝗若虫林间简易识别

频次分布、变异系数以及回归分析的结果表明头宽是黄脊竹蝗整个若虫期最佳的分龄指标, 其次是头长和体长, 根据分龄指标以及易操作性总结出了黄脊竹蝗若虫林间识别方法(表5)。

同时, 翅芽作为黄脊竹蝗发育过程中变化较为明显的形态特征(相较于头宽和头长, 易于肉眼判别), 可将翅芽和体长等指标的综合分析纳入 3-5 龄若虫发育阶段的判别。1 龄和 2 龄翅芽发育不明显, 可通过头宽和体长大小进行判别, 3 龄若虫与 4 龄和 5 龄若虫在体长、翅芽大小上存在明显的差异, 且翅芽前端与胸部末端平齐, 4 龄和 5 龄若虫需结合头宽、体长以及翅芽综合判断, 较为明显的是 4 龄若虫翅芽末端主要在第 1 腹节处的位置, 而 5 龄若虫翅芽末端主要在第 3 和第 4 腹节处的位置。

表 4 3-5 龄 Wilks λ 值
Table 4 3rd-5th instar Wilks λ value

函数 Function	Wilks λ 值 Wilks λ value	卡方检验 Chi-square	自由度 df Degree of freedom	P 值 P value
1-2	0.004	361.635	10	0.000
2	0.347	74.046	4	0.000

表 5 虫林间简易识别表
Table 5 Simple determination table for nymph of *Ceracris kiangsu*

龄期 Instars	体长 (mm) Body length (mm)	头宽 (mm) Head width (mm)	翅芽 Wing bud
1 龄 1st instar	6.79-12.73	1.73-2.37	无, 只有两块背板 Invisible, only two backplanes
2 龄 2nd instar	10.50-17.19	2.07-2.93	无, 只有两块背板, 比 1 龄稍大 Invisible, only two backplanes, bigger than that of the 1st instar
3 龄 3rd instar	15.19-22.26	2.44-3.70	翅芽成小三角状, 基本于胸部末端平齐 The wing bud are in a small triangle shape, almost flush with the end of the thorax
4 龄 4th instar	22.26-27.26	3.25-4.50	翅芽变长, 末端达到第 1 腹节处 Wing bud become longer, and the end reaches the first abdominal segment
5 龄 5th instar	23.50-34.36	3.96-5.11	翅芽变长, 末端达到第 3 和第 4 腹节处 Wing bud become longer, and the end reaches the third or fourth abdominal segment

3 讨论

观察幼虫蜕皮过程来判定虫龄最为直接准确, 但费时费力(杨曜铭和杨明, 2018), 因而常选择骨化程度较高、便于测量的部位作为幼虫虫龄判定的形态指标(Richardi *et al.*, 2013)。本研究在室内饲养条件下, 历时 60 d, 观察了黄

脊竹蝗自卵到成虫发育过程中的蜕皮情况, 结果表明黄脊竹蝗若虫共 5 龄, 与前人(陈昌洁和王贵成, 1959; 徐天森和王浩杰, 2004)报道的黄脊竹蝗若虫龄数一致。同时, 本研究测量了黄脊竹蝗若虫体长、体重、头长、头宽、翅芽长、翅芽宽、翅芽面积及触角长 8 个指标数据, 进行变异系数、频次分布以及回归分析, 结果表明数据表征的龄数与蜕皮观测的结果一致, 头宽在黄脊

竹蝗若虫发育过程中随龄期的增加增长较为稳定,是若虫龄期判别的最佳指标,可靠性最高,头长和体长次之(表1,表2,图5)。

Brooks 和 Crosby 指数是评测昆虫幼虫发育的重要指标,常用于鞘翅目(Coleoptera)、鳞翅目(Lepidoptera)等完全变态类型昆虫的分龄(Chen *et al.*, 2021)。而对于一些渐变态昆虫,幼虫的一些形态指标在生长过程中变异较大,Brooks 指数和 Crosby 指数并不适用(Loerch and Cameron, 1983; Lackmann and Butler, 2018),如高勇(2013)等发现用于绿盲蝽 *Apolygus lucorum* 分龄的体长、体宽和头宽等指标不符合 Dyar 和 Crosby 法则。本研究所选取的 8 个黄脊竹蝗若虫分龄指标中,体重、翅芽长和翅芽面积用 Brooks 指数验证时存在较大的波动,8 个指标的 Crosby 指数(绝对值)均大于 10%,若虫从 2 龄到 3 龄出现了体型的断裂式增长,这可能是黄脊竹蝗若虫从地面跳蝻(2 龄)到上竹取食(3 龄)过程中行为及习性发生明显变化导致的。此外,翅芽在 3 龄到 4 龄之间增长迅速,导致 Brooks 指数和 Crosby 指数变异较大。同属蝗总科的东亚飞蝗 *Locusta migratoria manilensis*、沙漠蝗 *Schistocerca gregaria* 在发育过程中会发生型变,群居型和散居型在体色、体型等方面存在显著差异(郭志永等, 2004),此类现象是否也会发生仍待进一步的试验验证。

昆虫生长发育容易受到环境、食物及天敌等多种因素的影响,因而在分析形态测量数据时,国内外学者普遍使用多个指标来划分虫龄数(Wu *et al.*, 2013; Peterson *et al.*, 2019),较少使用单一指标,而聚类分析和判别分析常用来对多个分龄指标进行整合(杨耀铭和杨明, 2018)。本研究将黄脊竹蝗形态指标作为变量,进行龄期的判别分析,将逐步判别分析分为 1-2 龄和 3-5 龄两部分,通过翅芽的有无进行函数选择,结果表明,翅芽可纳入黄脊竹蝗 3-5 龄若虫的判别, Fisher 判别准确率在 98% 以上。针对黄脊竹蝗的生物学特性,我们制作了简易的黄脊竹蝗若虫林间识别表用于林间快速鉴定若虫的龄期(表 5)。在野外的调查中,根据翅芽有无分为 1-2 龄判别和 3-5 龄判别两部分,在 1 龄和 2 龄以体长作为

辅助判别指标,在 3-5 龄以翅芽作为辅助判别指标。在天牛幼虫、美洲斑潜蝇 *Liriomyza sativae* 等隐蔽性害虫的野外发育进度判别中,获得幼虫分龄指标的数据显然是困难的,也可考虑像粪粒、排出物中木屑的大小(廉梅霞和张育平, 2011; 张祖兵等, 2020)以及蛀道的长度(吴佳教等, 1998)等指标作为分龄的依据。

通常,环境温、湿度、光周期、营养条件、幼虫密度、遗传和性别等因素对昆虫幼虫蜕皮、龄数和龄期有一定影响,相应的测量指标也会发生变化(Esperk *et al.*, 2007; Chown and Gaston, 2010; Razmjou *et al.*, 2014)。如蚱类幼期在食物匮乏且栖息条件异常情况下会出现龄数增加,晚孵化的天幕毛虫 *Malacosoma disstria* 错过最佳取食时期,会通过增加龄期来弥补早期发育的不足(杨耀铭和杨明, 2018; Jones and Despland, 2006)。然而,本研究仅考虑了适宜温湿度条件下喂食毛竹叶片的情况,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)

- Brooks WK, 1886. Report on the stomatopoda collected by H.M.S. Challenger during the years 1873-1876. Report on the Scientific Results of the Voyage of H.M.S. Challenger. *Zoology*, 16: 1-116.
- Cen GJ, Yu YH, Zeng XR, Long XZ, Wei DW, Gao XY, Zeng T, 2015. An adaptive kernel smoothing method for classifying *Austrosimulium tillyardianum* (Diptera: Simuliidae) larval instars. *Journal of Insect Science*, 15(1): 159.
- Chen C, Zhang CC, Li SY, Zhu H, Fan BQ, Wang Y, Su P, Han YY, Hao DJ, 2021. Biological traits and life history of *Pagiophloeus tsushimanus* (Coleoptera: Curculionidae), a weevil pest on camphor trees in China. *Journal of Forestry Research*, 32(5): 1979-1988.
- Chen CJ, Wang GC, 1959. Changes in the external morphological of *Ceracris kiangsu* Tsai at different developmental stages. *Entomological Knowledge*, 5(4): 139-142. [陈昌洁, 王贵成, 1959. 黄脊竹蝗(*Ceracris kiangsu* Tsai) 蛹期各龄外部形态上的变化. 昆虫知识, 5(4): 139-142.]
- Chown SL, Gaston KJ, 2010. Body size variation in insects: A

- macroecological perspective. *Biological Reviews*, 85(1): 139–169.
- Craig DA, 1975. The larvae of *Tahitian simuliidae* (Diptera: Nematocera). *Journal of Medical Entomology*, 12(4): 463–476.
- Crosby TK, 1973. Dyar's rule predated by Brooks' rule. *New Zealand Entomologist*, 5(2): 175–176.
- Delbac L, Lecharpentier P, Thiery D, 2010. Larval instars determination for the European grapevine moth (Lepidoptera: Tortricidae) based on the frequency distribution of head-capsule widths. *Crop Protection*, 29(6): 623–630.
- Dyar HG, 1890. The number of molts of lepidopterous larvae. *Psyche*, 5(175/176): 420–422.
- Esperk T, Tammaru T, Nylin S, 2007. Intraspecific variability in number of larval instars in insects. *Journal of Economic Entomology*, 100(3): 627–645.
- Farmer AS, 1973. Age and growth in *Nephrops norvegicus* (Decapoda: Nephropidae). *Marine Biology*, 23(4): 315–325.
- Fink TJ, 1980. A comparison of mayfly (Ephemeroptera) instar determination methods. *Advances in Ephemeroptera Biology*, New York: Plenum Press. 367–380.
- Gao Y, Tan XM, Zhou HX, Men XY, Yu Y, 2013. Correlation between larval instar and morphological development indexes of *Apolygus lucorum*. *Cotton Science*, 25(4): 339–344. [高勇, 谭秀梅, 周洪旭, 门兴元, 于毅, 2013. 绿盲蝽分龄与其形态发育指标的相关性. 棉花学报, 25(4): 339–344.]
- Guo ZY, Shi WP, Zhang L, Wang GL, 2004. Behavioral and morphological indices for phase transformation of oriental migratory locust *Locusta migratoria manilensis*. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 15(5): 859–862. [郭志永, 石旺鹏, 张龙, 王贵龙, 2004. 东亚飞蝗行为和形态型变的判定指标. 应用生态学报, 15(5): 859–862.]
- Jones BC, Despland E, 2006. Effects of synchronization with host plant phenology occur early in the larval development of a spring folivore. *Canadian Journal of Zoology*, 84(4): 628–633.
- Lackmann AR, Butler MG, 2018. Breaking the rule: Five larval instars in the podonomine midge *Trichotanytus alaskensis* Brundin from Barrow, Alaska. *Journal of Limnology*, 77(s1): 31–39.
- Li R, Jiang GF, Shu XH, Wang YQ, Li MJ, 2020. Identification and expression profile analysis of chemosensory genes from the antennal transcriptome of bamboo locust (*Ceracris kangsue*). *Frontiers in Physiology*, 11: 889.
- 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.]
- Loerch CR, Cameron 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.
- Peterson MK, Appel AG, Hu XP, 2019. Instar determination of *Blattella asahinai* (Blattodea: Ectobiidae) from digital measurements of the pronotum using Gaussian mixture modeling and the number of cercal annuli. *Journal of Insect Science*, 19(5): 1–14.
- Razmjou J, Naseri B, Hemati SA, 2014. Comparative performance of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) on various host plants. *Journal of Pest Science*, 87(1): 29–37.
- Richardi VS, Rebecchi D, Aranha JMR, Navarro-Sliva MA, 2013. Determination of larval instars in *Chironomus sancticaroli* (Diptera: Chironomidae) using novel head capsule structures. *Zoologia*, 30(2): 211–216.
- Schmidt FH, Campbell RK, Trotter SJ, 1977. Errors in determining instar numbers through head capsule measurements of a lepidopteran—a laboratory study and critique. *Annals of the Entomological Society of America*, 70(5): 750–756.
- Sukovata L, 2019. A comparison of three approaches for larval instar separation in insects—A case study of *Dendrolimus pini*. *Insects*, 10(11): 384–396.
- Teng Y, Shu JP, Liu J, Lin YH, Xu TS, Wang HJ, 2012. Scanning electron microscopy on antennal sensilla of yellow-spined bamboo locust *Ceracris kangsue* (Orthoptera: Oedipodidae). *Chinese Journal of Ecology*, 31(5): 1225–1232. [滕莹, 舒金平, 刘剑, 林育红, 徐天森, 王浩杰, 2012. 黄脊竹蝗触角感器的电镜扫描观察. 生态学杂志, 31(5): 1225–1232.]
- Wang F, Yu Q, Guo GM, Hao C, Fan RJ, 2016. Determination of larval instar number and duration of the *Grapholitha molesta* (Lepidoptera: Tortricidae). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 53(2): 390–395. [王芳, 庾琴, 郭贵明, 郝赤, 范仁俊, 2016. 梨小食心虫幼虫龄数和龄期的划分. 应用昆虫学报, 53(2): 390–395.]
- Wang XY, Yang ZQ, Liu GJ, Liu ES, 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 XY, Yang ZQ, Tang YL, Jiang J, Yang YL, Gao C, 2012. Determination of larval instar number and duration in the oak longhorn beetle, *Massicus raddei* (Coleoptera: Cerambycidae). *Acta Entomologica Sinica*, 55(5): 575–584. [王小艺, 杨忠岐, 唐艳龙, 姜静, 杨远亮, 高纯, 2012. 栗山天牛幼虫龄数和龄

- 期的测定. 昆虫学报, 55(5): 575–584.]
- Wei SJ, Zheng HH, Huangpu 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.]
- Wu JJ, Zeng L, Liang GW, Zhang WQ, 1998. The leafmining behaviors and instars distinguish of *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae). *Journal of South China Agricultural University*, 19(4): 27–31. [吴佳教, 曾玲, 梁广文, 张维球, 1998. 美洲斑潜蝇幼虫取食行为及龄期划分. 华南农业大学学报, 19(4): 27–31.]
- Wu H, Appel AG, Hu XP, 2013. Instar determination of *Blattica dubia* (Blattodea: Blaberidae) using Gaussian mixture models. *Annals of the Entomological Society of America*, 106(3): 323–328.
- Xu TS, Wang HJ, 2004. Main Pest of Bamboo in China. Beijing: China Forestry Publishing House. 54–55. [徐天森, 王浩杰, 2004. 中国竹子主要害虫. 北京: 中国林业出版社. 54–55.]
- Yang YM, Yang M, 2018. Applications of morphometry in the studies of black fly (Diptera: Simuliidae) instar number. *Journal of Environmental Entomology*, 40(2): 380–389. [杨曜铭, 杨明, 2018. 形态计量学在蚋类幼虫龄数研究中的应用. 环境昆虫学报, 40(2): 380–389.]
- Yu HP, Shen K, Wang ZT, Mu LL, Li GQ, 2011. Population control of the yellow-spined bamboo locust, *Ceracris kiangsu*, using urine borne chemical baits in bamboo forest. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 138(1): 71–76.
- 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.]
- Zhang ZB, Long JM, Zhang YK, Zhao CP, Zhu GY, Chen S, Duan B, 2020. Screening of larval instar classification indexes of *Batocera rufomaculata*. *China Plant Protection*, 40(6): 32–38. [张祖兵, 龙继明, 张永科, 赵春攀, 朱国渊, 陈石, 段波, 2020. 赤斑白条天牛幼虫龄期划分指标的筛选. 中国植保导刊, 40(6): 32–38.]
- Zhou XM, Li BS, Liu B, Wang YJ, Ye BH, 2017. Preliminary investigation on the identification of the larval stages of the *Bactrocera dorsalis* Hendel. *Plant Quarantine*, 31(2): 17–22. [周小妹, 李柏树, 刘波, 王跃进, 叶保华, 2017. 桔小实蝇幼虫龄期鉴别初步研究. 植物检疫, 31(2): 17–22.]
- Zhou XR, Chen Y, Guo YH, Pang BP, 2012. Population dynamics of *Oedaleus asiaticus* on desert grasslands in Inner Mongolia. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 49(6): 1598–1603. [周晓榕, 陈阳, 郭永华, 庞保平, 2012. 内蒙古荒漠草原亚洲小车蝗的种群动态. 应用昆虫学报, 49(6): 1598–1603.]
- Zhu LM, Wen H, Feng LH, Wang LQ, Zhang RL, 2017. Determination of larval instars of *Chironomus flaviplumus* Tokunaga (Chironomidae: Diptera). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 54(2): 298–308. [朱利明, 温虹, 冯立辉, 王丽卿, 张瑞雷, 2017. 黄羽摇蚊 *Chironomus flaviplumus* Tokunaga 幼虫龄期研究. 应用昆虫学报, 54(2): 298–308.]
- Zhuo FY, Zhu JQ, Ren BY, Lv JP, Zhang L, Chen AD, Yang XL, Liu WC, 2020. Preliminary report on the prevention and control of *Ceracris kiangsu* (Tsai) in Yunnan province in 2020. *China Plant Protection*, 40(8): 60–62. [卓富彦, 朱景全, 任彬元, 吕建平, 张龙, 湛爱东, 杨学礼, 刘万才, 2020. 2020年云南省黄脊竹蝗发生防控初报. 中国植保导刊, 40(8): 60–62.]