

横坑切梢小蠹幼虫触角与口器化学传感器的超微结构

鲁国艳¹, 朱海迪¹, 杨培², 杨斌¹, 李宗波^{1*}

¹西南林业大学生物多样性保护学院/云南省森林灾害预警与控制重点实验室, 云南 昆明 650224;

²云南中医药大学, 云南 昆明 650500

摘要:【目的】了解横坑切梢小蠹幼虫触角和口器上化学传感器的类型、数量和分布。【方法】应用扫描电子显微镜观察了横坑切梢小蠹末龄幼虫头部形态及触角和口器上的化学传感器。【结果】横坑切梢小蠹幼虫触角仅有1节,着生有2类6种传感器,分别为锥形感器1~2和末梢锥形感器1~4;下颚须和下唇须均为2节,共发现有3类5种传感器,包括锥形感器3、指形感器、末梢锥形感器2、4和5。锥形感器1~3表面具多孔,为典型的嗅觉器官;末梢锥形感器顶端具孔,应为味觉感器;指形感器为下颚须特有,每侧仅有1个,光滑、无孔表面可能意味其具有声音感知功能。【结论】横坑切梢小蠹末龄幼虫头部化学传感器数量少,分布模式简单,且集中分布在触角、下颚须和下唇须的端部,研究将为深入理解横坑切梢小蠹幼虫取食及其相关行为提供科学依据。

关键词: 横坑切梢小蠹; 幼虫; 触角; 口器; 化学感器; 超微结构



开放科学标识码
(OSID 码)

Ultrastructure of chemical sensilla on the antennae and mouthparts of the larvae of *Tomicus minor* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)

LU Guoyan¹, ZHU Haidi¹, YANG Pei², YANG Bin¹, LI Zongbo^{1*}

¹Key Laboratory of Forest Disaster Warning and Control in Yunnan Province, College of Biodiversity Conservation, Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan 650224, China; ²Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming, Yunnan 650500, China

Abstract: 【Aim】 To investigate the type, number, and distribution of chemical sensilla on the antennae and mouthparts of the larvae of *Tomicus minor* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). 【Method】 Chemical sensilla on the larval head of the last instar *T. minor* was examined using scanning electron microscopy. 【Result】 The larval antennae of *T. minor* have only one segment that bears six types of sensilla, including sensilla basiconica 1–2 and sensilla twig basiconica 1–4. Both the maxillary and labial palps consist of two segments with five sensory organ types. These were identified as sensilla basiconica 3, sensilla digitiformia, and sensilla twig basiconica 2, 4, and 5. Sensilla basiconica 1–3 with multiple surface pores may play a typical role in odor sensing of chemicals in the larval gallery. Sensilla twig basiconica with tip pores should be interpreted as having a gustatory function. Sensilla digitiformia with a smooth and nonporous surface were presumed to be sensible to sound production in Scolytinae because only one sensilla digitiformia was found on the lateral view of the maxillary palp. 【Conclusion】 Chemical sensilla on the larval head of the last instar of *T. minor* exhibited a low abundance, a simple distribution pattern, and an unchanged concentration on the tips of the antennae, maxillary, and labial palp. The findings of this study are expected to provide further scientific data for a deeper understanding of the feeding and related behaviors of the larvae of *T. minor* under bark.

Key words: *Tomicus minor*; larvae; antennae; mouthpart; chemical sensilla; ultrastructure

收稿日期(Received): 2023-06-21 接受日期(Accepted): 2023-08-30

基金项目: 云南省基础研究重点项目(202101AS070009, 2018FG001-010); 云南省林业领域重点研发计划项目(202302AE090017); 兴滇英才支持计划(YNWR-QNBJ-2018-131)

作者简介: 鲁国艳, 女, 硕士研究生。研究方向: 森林昆虫学。E-mail: luyg@swfu.edu.cn

* 通信作者(Author for correspondence), 李宗波, E-mail: lizb@swfu.edu.cn

横坑切梢小蠹 *Tomicus minor* Hartig 隶属于鞘翅目 Coleoptera 象虫科 Curculionidae 小蠹亚科 Scolytinae 切梢小蠹属 *Tomicus*, 主要分布于欧亚大陆, 可危害分布区内的所有松属植物, 尤其偏爱于苏格兰松 *Pinus sylvestris* L. 和欧洲黑松 *P. nigra* J. F. Arnold, 造成了严重的生态和经济损失 (Vega & Hofstetter, 2015)。在我国西南地区, 横坑切梢小蠹与云南切梢小蠹 *T. yunnanensis* Kirkendall & Faccoli、短毛切梢小蠹 *T. brevipilosus* (Eggers) 共同危害云南松 *P. yunnanensis* Franch., 并具有相似的生活史 (叶辉, 2011; Liu *et al.*, 2019), 即每年的 4 月下旬—5 月上旬, 横坑切梢小蠹的成虫会陆续迁飞到邻近云南松嫩枝上 (蛀梢期), 蛀食嫩梢髓部, 补充营养, 使得嫩枝枯黄, 降低树木的生长势和生物量; 11 月下旬—翌年 4 月, 发育成熟的成虫则会陆续蛀入树干 (蛀干期), 开始产卵、繁殖后代, 这一过程通常由一对雌、雄成虫配合完成, 雌成虫负责构筑母坑道, 雄成虫则负责将雌成虫产生的木屑排出坑道 (高艳飞等, 2012; 叶辉, 2011)。横坑切梢小蠹的主坑道为横向、双臂状, 长度 8~20 cm, 雌成虫将卵产在主坑道的上下两侧, 卵经历 14~21 d 即可孵化, 孵化后幼虫沿着与主坑道垂直的一侧进行取食, 形成与母坑道垂直的子坑道, 子坑道会随着幼虫龄期的增大而逐渐增宽, 约经历 0.5~1.0 月, 幼虫发育至老熟, 在子坑道末端化蛹, 羽化为成虫后开始新的生活史循环 (叶辉, 2011)。可见, 在整个发育过程中, 横坑切梢小蠹克服树木抗性, 包括成虫和幼虫, 就成为其种群生存和繁衍的重要条件, 而前者直接与寄主初级引诱、小蠹虫聚集信息素和共生微生物 (如蓝变真菌、细菌) 相关 (Vega & Hofstetter, 2015; Werle *et al.*, 2019; Wu *et al.*, 2019), 这也是小蠹虫灾变机制研究及其害虫生态调控过程中关注的重点 (戈峰, 2020); 而后者则需要适应和降解寄主植物产生的有毒有害物质, 进而获取营养并完成幼虫的发育 (Vega & Hofstetter, 2015)。但相较于成虫, 全头无足型幼虫的移动能力不足, 加之在坑道内生活和取食的时间长, 意味着其感知外界环境中的各种信息因子, 特别是各种化学信息, 并做出相应的协调行为, 将直接影响并决定幼虫的存活率。这也是探索和完善横坑切梢小蠹综合治理途径所不可或缺的环节 (戈峰, 2020; Vega & Hofstetter, 2015)。

与成虫类似, 幼虫的化学感受器官也主要集中在头部, 特别是触角、下颚须和下唇须, 是幼虫与外界环境进行化学通讯的基本单位, 其在幼虫的许多相关行为上具有重要作用, 如蛀坑、取食、避让等 (Alekseev *et al.*, 2006; Eilers *et al.*, 2012; Morrison *et al.*, 2019; Vega & Hofstetter, 2015; Zacharuk & Shields, 1991)。目前, 关于小蠹亚科或者象虫科昆虫幼虫头部感器的研究, 仅见到落叶松八齿小蠹 *Ips subelongatus* Motschulsky 和云杉八齿小蠹 *I. typographus* Linnaeus (Shi *et al.*, 2020)、杨干象 *Cryptorrhynchus lapathi* L. (Yang *et al.*, 2019)、沟眶象 *Eucryptorrhynchus scrobiculatus* Motschulsky 和臭椿沟眶象 *E. brandti* (Harold) (Yang *et al.*, 2017) 以及苜蓿叶象甲 *Hypera postica* (Gyllenhal) (Bland, 1983) 等。尽管这些幼虫在钻蛀、生活习性、栖境上有一定的相似性, 但他们的幼虫头部感器仍存在诸多差异。如, Alekseev *et al.* (2006) 发现一种齿小蠹 *Ips* sp. 的头部分布有嗅觉锥 (olfactory cone)、毛形感器、锥形感器和腔锥形感器, 且多数集中在附肢的末端, 数量仅有 21 个; 而 Shi *et al.* (2020) 发现, 落叶松八齿小蠹和云杉八齿小蠹均分布有毛形感器、锥形感器、末梢锥形感器和板形感器, 数量上有 88 和 89 个, 但末梢锥形感器 3 (0 vs 14) 和末梢锥形感器 4 (4 vs 18) 有明显不同。考虑到横坑切梢小蠹的母坑道可深入到木质部外缘处, 其初孵幼虫即可直接取食木材纤维, 又可取食韧皮部与边材中的淀粉纤维, 这与目前已知的齿小蠹及其他树皮小蠹均不相同, 可能预示其在坑道内的取食及信息感知方式有独特性 (Liu *et al.*, 2019; Vega & Hofstetter, 2015)。因此, 本文利用扫描电子显微镜观察了横坑切梢小蠹末龄幼虫的触角、下颚须和下唇须上着生的各类化学感器, 以期为深入理解其幼虫的取食及信息感知提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试虫来源与鉴定

试验样地设于云南省曲靖市沾益九龙山林场 (103°47'44"E, 25°39'52"N), 样地内的横坑切梢小蠹主要位于树干的中下部。根据横坑切梢小蠹蛀干繁殖的生活习性, 于 2022 年 2—3 月将受害的云南松树干中下部带回实验室, 从横向坑道内剖取幼虫。根据幼虫头壳的宽度 (张梦蝶等, 2021), 将横坑切梢小蠹幼虫分为 3 个龄数: 1 龄 0~0.59 mm, 2

龄 0.60~0.90 mm, 3 龄 0.91~1.28 mm, 选取头壳宽度大于 0.91 mm 的幼虫作为末龄幼虫, 即为研究对象, 临时放入 4 ℃ 冰箱保存、待用。

1.2 样品制备与观察

将末龄幼虫从冰箱内取出, 放置在有湿润滤纸的培养皿内, 让其自由爬行 2 h, 除去体表粘黏的杂质, 随后将整体放入 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磷酸缓冲液中 (pH7.2~7.4) 进行超声波清洗, 清洗 3 次, 每次 1 min, 结束后即置入 2.5% 戊二醛多聚甲醛的固定液中, 4 ℃ 冰箱中过夜。过夜后, 进行酒精梯度脱水 (30%、50%、60%、70%、80%、90%、无水乙醇), 每一梯度脱水一次, 每次 30 min。最后, 在体视镜下摘取幼虫头部, 并将其黏在电镜样品台上, 用全自动 Gressington 108 离子溅射仪 (英国) 镀金 100 s, 接着利用蔡氏 Sigma300 电子扫描显微镜 (德国) 进行观察和拍照, 共观察 12 头, 加速电压为 7 kV。

1.3 感器命名与数据分析

参考感器的外部形态特征进行分类, 并依据 Zacharuk (1985)、Yang *et al.* (2019)、Shi *et al.*, (2020) 的方法命名。由于幼虫触角、下颚须和下唇须分布的感器数量少, 分布位置稳定, 各感器的数量直接从其分布位置进行计数和累加, 感器的长与基部宽均使用 Image J (Version 1.53c, <https://imagej.nih.gov/ij>) 进行测量, 每种感器至少进行 10 次生物学重复。所有图片处理均在 Adobe Photoshop CC 2018 中进行, 所有数据计算和分析均使用 R 软件 (Version 4.2.2, <https://cran.r-project.org/>)。

2 结果与分析

2.1 幼虫头部形态及其感觉附肢

横坑切梢小蠹幼虫头部呈椭圆形, 上有一隐约可见的“Y”形蜕裂线, 具有较为清晰的额唇基沟和少量长度不等的刚毛, 有一对触角, 但没有单眼 (图 1A)。幼虫头式为下口式, 咀嚼式口器, 由上唇、上颚、下唇、下颚、下颚须和下唇须等构成。上唇位于头部的中央, 是一个衔接于唇基前缘并覆盖在上颚前面的双层薄片, 表面光滑, 基部至末端稀疏分布着 3 行毛形感器, 数量依次为 4、4 和 2 根, 而下唇末端则着生 12 根刺形感器, 刺的大小由中心位置向两侧依次增大, 上唇可在一定范围内进行前后运动, 具有防止食物遗漏的作用。上颚一对, 位于上唇之后, 呈三角形锥状、坚硬, 前部为切齿叶, 分化出顶齿、次顶齿、中齿和磨齿, 主要用于切断和撕裂

食物; 臼齿叶位于基部, 表面有 2 根刺形感器, 可用于感知上颚的开闭及磨碎食物。下颚一对, 位于上颚和下唇之间, 包括茎节、轴节、外颚叶、内颚叶和下颚须 5 部分, 内颚叶外缘有 9~11 根强壮的板状齿, 下颚须 2 节, 端部聚集分布有锥形感器和末梢锥形感器, 具有协助取食的作用。下唇一个, 位于下颚之后, 腹面除了分布有少量的毛形感器和刺形感器外, 近乎光滑, 下唇须 2 节, 其端部也聚集分布着锥形感器和末梢锥形感器, 主要有托挡食物的作用。由于毛形感器和刺形感器均被视作典型的机械感器, 与本文研究范畴关系不大, 因此本文着重关注横坑切梢小蠹幼虫的触角、下颚须和下唇须端部集中分布的不同类型和数量的化学感器。

2.2 幼虫触角与口器上的化学感器

根据感器的外部形态及其表面孔的数量和位置, 将触角、下颚须和下唇须着生的感器分为 3 类: 锥形感器 (sensilla basiconica, Sb)、末梢锥形感器 (sensilla twig basiconica, Stb) 和指形感器 (sensilla digitiformia, Sdi) (图 1C~E)。其中, 触角上有 2 类 6 种感器, 分别为锥形感器 1~2 和末梢锥形感器 1~4; 下颚须有 3 类 5 种感器, 分别为锥形感器 3、指形感器以及末梢锥形感器 2、4 和 5; 下唇须有 2 类 4 种感器, 包括锥形感器 3 以及末梢锥形感器 2、4 和 5。由此可见, 末梢锥形感器 2 和末梢锥形感器 4 是触角、下颚须和下唇须上共有的感器类型, 各感器类型、形态、分布及其数量的详细特征如下。

锥形感器: 形似锥体, 直立, 可分为锥形感器 1 (Sb.1)、2 (Sb.2) 和 3 (Sb.3)。Sb.1 直接从触角表面突起, 基部略微收缩, 随后膨大, 向端部处逐渐变小, 至末端处通常出现双向分叉, 每一分叉的顶端较为钝圆。感器表面粗糙, 随机散布大量的微孔和数量不等的分泌孔, 微孔类似一个凹刻刺穿感器表面, 孔径为 $(32.0 \pm 8.4) \text{ nm}$, 分泌孔则类似一洞穴嵌入感器表面, 且穴外缘处常有圆柱形或乳突状的分泌物, 孔径 $(156.3 \pm 50.7) \text{ nm}$ 。该感器仅位于触角中心位置, 明显高于其他类型感器, 每一触角恒定为一个 (图 1C、图 2A)。Sb.2 位于一个窄的圆形凹槽内, 从基部至端部逐渐变细, 无分叉。感器表面有大量的微孔和一个分泌孔, 前者孔径 $[(42.8 \pm 8.1) \text{ nm}]$ 与 Sb.1 的孔径类似, 而后者 $[(404.2 \pm 72.0) \text{ nm}]$ 则为 Sb.1 的 2.5 倍。该感器位于 Sb.1 的外缘, 也仅分布在触角, 每个触角有一个 (图 1C、图

2B);Sb.3 外形与 Sb.2 类似,短粗,表面粗糙,基部无凹槽,端部更为钝圆,且随机分布着数十个微孔孔径 $[(28.9\pm6.7)\text{ nm}]$ 和一个分泌孔 $[(269.0\pm74.8)\text{ nm}]$ 。该传感器仅见于下颚须和下唇须端部的中心位置,每一个触须上仅有一个(图 1D~E、图 2C)。

末梢锥形感器:外形似锥子,但锥体末端形态变化大,可据此将其分末梢锥形感器 1 (Stb.1)、2 (Stb.2)、3 (Stb.3)、4 (Stb.4)和 5 (Stb.5)。Stb.1 着生在一个阔的圆形凹槽内,感器表面光滑无孔,但其顶端有一明显凹陷,凹陷中心处似有一微孔。该感器仅分布在触角端部,紧邻 Sb.1,且位于 Sb.1 的内侧(图 1C、图 2D);Stb.2 的基部凹槽不明显,感器表面光滑、无孔,末端具有一圆形的内陷孔,孔边缘则呈现乳突状,分布于触角、下颚须和下唇须的端部,每一着生位置的数量较为恒定,依次为 2、4 (或 5)和 3 个(图 1C~E、图 2E);Stb.3 坐落于一个阔的圆形凹槽内,感器主轴 2/3 处向内侧略微弯曲,端部钝圆,侧面可见到一似孔的凹刻。该感器

仅见于触角端部,Sb.1 的最内侧,每一触角的数量恒定为一个(图 1C、图 2F);Stb.4 外形似一乳突坐落在一个锥体上,乳突端部中心处有一微孔,外缘处则有一列微孔围绕着中心孔,整体上呈现套筒状,集中分布在下颚须和下唇须端部的最外侧和触角上,呈环状包围着 Sb.3、Stb.2、Stb.4 和 Stb.5。下颚须通常有 14~16 个,下唇须有 14~17 个,是下颚须和下唇须和触角上高度最低的传感器类型(图 1D~E、图 2G);Stb.5 外形似圆柱状,但端部突然收缩、钝圆,且分布有纵向沟槽,沟槽在端部中心处汇集在一起,内陷成一凹槽,凹槽中心又有一明显低于凹槽的锥状突起。该感器是下颚须和下唇须端部最强壮的感器,并与 Stb.2 混合分布,一起环绕着 Sb.3,每个唇须上的数量有 3~4 个(图 1D~E、图 2H)。

指形感器:外形似指形或板状,平附在一个深的狭长凹槽内,感器长 $(26.9\pm1.5)\text{ }\mu\text{m}$,基部宽 $(2.6\pm0.3)\text{ }\mu\text{m}$,仅分布下颚须端部的内侧面,每一颚须上仅有一个(图 1D、图 2I)。

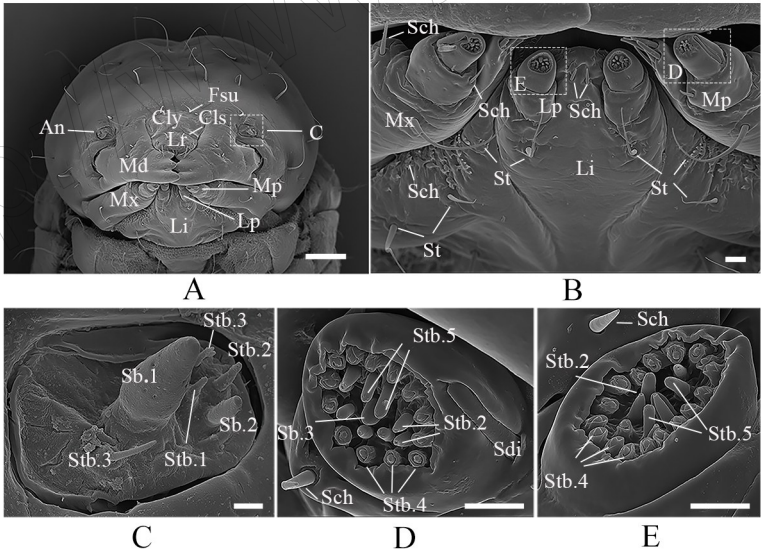


图 1 横坑切梢小蠹幼虫头部及其附肢

Fig.1 Front view of the head and its sensory appendage of the last instar larvae of *T. minor*
A: 头部整体;B: 颚和下唇;C: 触角;D: 下颚须端部;E: 下唇须端部。An: 触角;Cls: 唇基沟;Cly: 唇基;Fsu: 额唇基沟;Li: 唇;Lp: 下唇须;Lr: 上唇;Md: 上颚;Mp: 下颚须;Mx: 下颚;Sb.1~3: 锥形感器 1~3;Sch: 刺形感器;Sdi: 指形感器;St: 毛形感器;Stb.1~5: 末梢锥形感器 1~5;虚线框指对应区域的放大图。比例尺: A=100 μm ; B=10 μm ; C~E=5 μm 。
A: Front view of the whole head; B: Front view of maxillae and labium; C: Front view of whole antennae; D: Front view of the tip of maxillary palp; E: Front view of the tip of labial palp; An: Antennae; Cls: Clypeal sulcus; Cly: Clypeus; Fsu: Frontoclypeal sulcus; Li: Labium; Lp: Labial palp; Lr: Labrum; Md: Mandible; Mp: Maxillary palp; Mx: Maxilla; Sb.1~3: Sensilla baciconica 1~3; Sch: Sensilla chaetica; Sdi: Sensilla digitiformia; St: Sensilla trichodea; Stb.1~5: Sensilla twig basiconica 1~5; The dashed boxes show the magnified area in the labelled letter in the followed figure. Scale bar: A=100 μm ; B=10 μm ; C~E=5 μm .

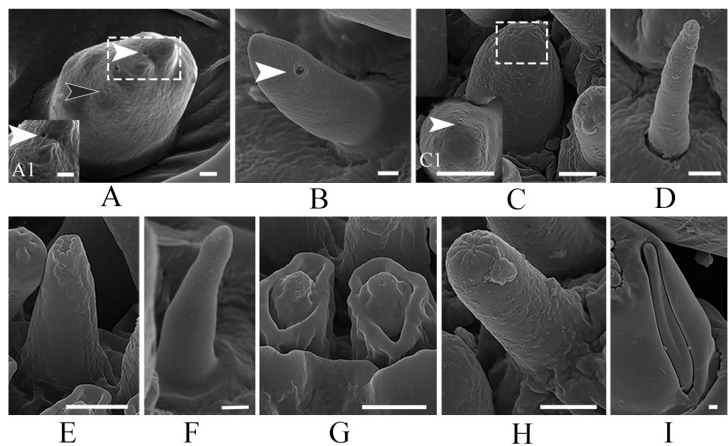


图 2 横坑切梢小蠹幼虫触角和口器传感器的超微结构

Fig.2 Ultrastructures of the sensilla on the antennae and mouthpart of the last instar larvae of *T. minor*

A: 锥形感器 1, A1 示该位置的放大图; B: 锥形感器 2; C: 锥形感器 3, C1 示该位置的放大图; D: 末梢锥形感器 1; E: 末梢锥形感器 2; F: 末梢锥形感器 3; G: 末梢锥形感器 4; H: 末梢锥形感器 5; I: 指形感器; 白色箭头表示感器表面的分泌孔, 黑色箭头表示表面孔。
Sb.1~2: 锥形感器 1~2; Sdi: 指形感器; Stb.1~4: 末梢锥形感器 1~4。比例尺 = 1 μm。
A: Sensilla basiconica 1, A1 shows themagnified view from the white-dashed box; B: Sensilla basiconica 2; C: Sensilla basiconica 3, C1 shows the magnified view from the white-dashed box; D: Sensilla twig basiconica 1; E: Ssensilla twig basiconica 2; F: Sensilla twig basiconica 3; G: Sensilla twig basiconica 4; H: Sensilla twig basiconica 5; I: Sensilla digitiformia; The black and white arrowhead shows the secreted and surface pores on the sensilla surface, respectively. Scale bar = 1 μm.

2.3 幼虫触角和口器感器的个体差异

横坑切梢小蠹幼虫触角和口器上共分布 3 类 9 种感器, Sb.1、Stb.2、Stb.4 和 Stb.5 存在明显的形态或者数量不同(图 3)。在触角上, Sb.1 和 Stb.2 的数量和着生位置恒定, 几乎不发生改变, 但两者的形态则出现显著不同。其中, Sb.1 的端部变化最大, 有不分叉(图 3A)、双分叉(图 3B)和多分叉(图 3C)3 种, 三者依次占比为 66.7%、16.7%和 16.7%; Stb.2 的端部则会出现非对称的“V”型分叉, 较为罕

见, 仅在 12 个样品中发现一例, 占比 8.3%。在下颚须和下唇须上, Stb.2、Stb.4 和 Stb.5 的形态和分布上几乎没有变化, 但三者数量上存在变动, 变动范围依次在 17~20、55~65 和 14~18 个, 数量越多, 各感器排列的越为紧密, 数量较少则较为稀疏(图 3A、B、C)。另外, 在同一个体的左、右下颚须和上唇须端部上, Stb.2、Stb.4 和 Stb.5 的数量也不对称, 常会出现多 1 或 2 个现象, 但整体数量保持相对稳定(表 1)。

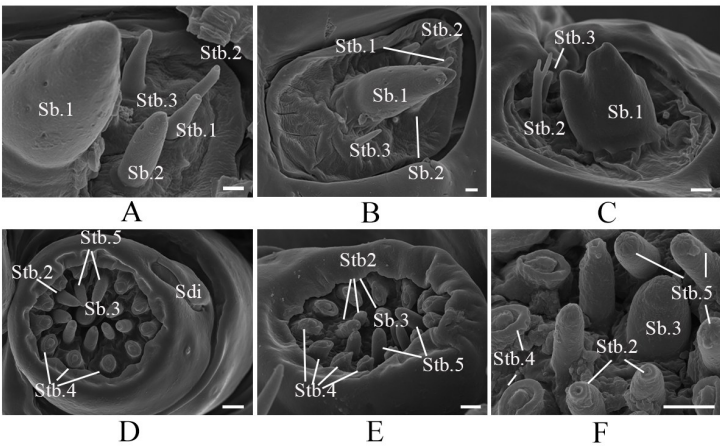


图 3 横坑切梢小蠹幼虫触角和口器感器的个体差异

Fig.3 Individual variations of the sensilla on the antennae and mouthpart of the last instar larvae of *T. minor*

A~C: 触角端部及其感器类型; D: 下颚须端部及其感器; E: 下唇须端部及其感器; F: 位于额须端部不同感器的超微形态。
Sb.1~3: 锥形感器 1~3; Stb.1~5: 末梢锥型感器 1~5; Sdi: 指形感器。比例尺 = 2 μm。
A~C: Front view of antennal tip and its sensilla; D: Front view of maxillary palp and its sensilla; E: Front view of labial palp and its sensilla. Sb.1~3: sensilla basiconica 1~3; Stb.1~5: Sensilla twig basiconica 1~5; Sdi: Sensilla digitiformia. Scale bar = 2 μm.

表 1 横坑切梢小蠹幼虫触角和口器感器的类型、形态及其数量

Table 1 Types, morphology, and quantity of the sensilla on the antennae and mouthpart of the last instar larvae of *T. minor*

感器类型 Types	形态 Shape	分布 Site	表面 Surface	微孔 Porosity	端部 Tip	基部凹槽 Basal socket	数量 /个 Quantity	长度 Length /μm
锥形感器 1 Sensilla basiconica 1	锥状,直立 Coniform, straight	触角 Antennae	粗糙 Rough	多孔 Multiparous	两分叉 Bifurcate	不明显 Unobvious	2	16.5±2.3
锥形感器 2 Sensilla basiconica 2	锥状,直立 Coniform, straight	触角 Antennae	粗糙 Rough	多孔 Multiparous	钝 Blunt	圆形,窄 Circular, shallow	2	9.0±0.7
锥形感器 3 Sensilla basiconica 3	锥状,直立 Coniform, straight	下颚须、下唇须 Maxillae, labrum	粗糙 Rough	多孔 Multiparous	钝 Blunt	圆形,阔 Circular, wide	4	4.2±0.5
末梢锥形感器 1 Sensilla twig basiconica 1	锥状,直立 Coniform, straight	触角 Antennae	光滑 Smooth	顶孔 Uniporous	凹陷 Concave	圆形,阔 Circular, wide	2	6.1±0.3
末梢锥形感器 2 Sensilla twig basiconica 2	锥状,直立 Coniform, straight	触角、下颚须、 下唇须 Antennae, maxillae, labrum	光滑 Smooth	顶孔 Uniporous	乳突形凹陷 Capitate concave	不明显 Unobvious	19±1	4.5±0.7
末梢锥形感器 3 Sensilla twig basiconica 3	锥状,直立 Coniform, straight	触角 Antennae	光滑 Smooth	侧面单孔 Uniporous, lateral	钝 Blunt	圆形,阔 Circular, wide	4	4.5±0.8
末梢锥形感器 4 Sensilla twig basiconica 4	锥状,直立 Coniform, straight	触角、下颚须、 下唇须 Antennae, maxillae, labrum	光滑 Smooth	顶孔 Uniporous	圆形凹陷 Circular concave	不明显 Unobvious	57±4	1.3±0.3
末梢锥形感器 5 Sensilla twig basiconica 5	锥状,直立 Coniform, straight	下颚须、下唇须 Maxillae, labrum	光滑 Smooth	顶孔 Uniporous	纵向沟槽 Longitudinal groove	不明显 Unobvious	16±1	4.3±0.5
指形感器 Sensilla digitiformia	指形或板状, 平附 Finger or platelike, flat	下颚须 Maxillae, labrum	光滑 Smooth	略凹陷 Concave	光滑 Smooth	狭长,宽 Microscler, wide	2	26.9±1.5

所有的数值均为均值±标准差。
All values are mean±standard deviation.

3 讨论

化学信号是联系昆虫与植物之间最为古老的一种通讯方式,也是引导植食性昆虫定向行为,如取食、交配、产卵、筑巢等的主要因素,亦在害虫治理方面具有重要意义(戈峰,2020; Vega & Hofstetter,2015; Visser,1988)。研究表明,多数昆虫幼虫主要通过触角、下颚须和下唇须上着生的各类化学感器来感知化学信号,这些感受器与幼虫取食及其相关行为联系密切(Zacharuk & Shields,1991)。应用扫描电子显微技术,本研究对横坑切梢小蠹末龄幼虫头部进行了详细的形态观察,发现其幼虫头部共有 3 类 9 种化学感器,触角上有锥形感器 1~2 和末梢锥形感器 1~4,下颚须有锥形感器 3、指形感器和末梢锥型感器 2、4 和 5,下唇须上有锥形感器 3 和末梢锥形感器 2、4 和 5,这些感器的类型、形态和分布与落叶松八齿小蠹(Shi *et al.*,2020)、云杉八齿小蠹(Shi *et al.*,2020)、杨干象(Yang *et al.*,2019)、

米象 *Sitophilus oryzae* (Linnaeus)(Speirs *et al.*,1986)、沟胫天牛亚科[光肩星天牛、星天牛 *A. chinensis* (Forster)、松墨天牛 *Monochamus alternatus* Hope、蓝墨天牛 *M. guerryi* Pic、桑天牛 *Apriona rugicollis* Chevrolat、锈色粒肩天牛 *A. swainsoni* (Hope)和云斑白条天牛 *Batocera lineolata* Chevrolat](徐丽丽,2016; Xu *et al.*,2017)、沟眶象(Yang *et al.*,2017)、臭椿沟眶象(Yang *et al.*,2017)、苜蓿叶象甲(Bland,1983)等亲缘关系较近的鞘翅目昆虫幼虫较相似(McKenna *et al.*,2019),仅数量上存在略微不同。例如,S.tb.4 在横坑切梢小蠹的每个唇须有 12~18 个,而在杨干和光肩星天牛(被称为 S.tb.6)、落叶松八齿小蠹和云杉八齿小蠹(被称为 S.t.b.5)上仅有 1~2 个。但是,对于亲缘关系较远和生活习性差别较大鞘翅目昆虫幼虫,如步甲科(Giglio *et al.*,2003)、拟步甲科(Behan & Ryan,1978; Ruschioni *et al.*,2019)、穴甲科(韩潇等,2021)、金龟甲

科(Eilers *et al.*, 2012)等则有很大的差异。例如, Giglio *et al.* (2003)观察了10族16属22种步甲科幼虫后发现,步甲幼虫头部仅着生2种化学感器,分别为指形感器和锥形感器,前者不仅分布在下颚须,也在下唇须处分布,数量上分别为1~32和0~61个;锥形感器同样广泛分布在下颚须和下唇须上,数量分别为0~106和6~190个。整体来看,营钻蛀性的昆虫幼虫头部的感器的数量较少,分布模式简单,且化学感器集中分布,这可能与其在树干内拥有相对稳定的环境有关,也说明坑道内的有限信息感知对其取食及其相关行为是不可或缺的(Yang *et al.*, 2017; Zacharuk & Shields, 1991)。

一般来说,感器表面孔的数量、位置以及基部是否有凹槽可用来推断该感器的功能,如表面具有多孔的感器是典型的嗅觉器官,而端部具单孔或少量微孔的,则为味觉器官。当然,也可能兼具机械、CO₂、湿热等功能(Altner *et al.*, 1981; Keil, 1996; Zacharuk & Shields, 1991)。对于横坑切梢小蠹来说,其幼虫的触角、下颚须和下唇须分布有8种表面具孔的感器(锥形感器1~3和末梢锥形感器1~5)和1中表面光滑无孔的感器(指形感器)。其中, Sb.1和Sb.2共同分布在触角上,这与多数的象虫科和天牛科昆虫幼虫触角上仅有Sb.1一种锥形感器不同,且这些Sb.1表面均没有分泌孔,考虑到分泌孔外缘的分泌物可能有利于与坑道内松脂类物质结合,加之多孔的表面以及直接从触角表皮突起, Sb.1可能兼具嗅觉、味觉和机械感知的功能, Sb.2可能为嗅觉和味觉器官。Sb.3仅见于下颚须和下唇须的端部,且高度低于Stb.2和Stb.5,形态上又与落叶松八齿小、云杉八齿小蠹、沟眶象、光肩星天牛等高度相似,其作为嗅觉器官应没有异议。Stb仅见于触角上,因其表面光滑以及顶端似有凹陷孔,形态上与沟眶象和臭椿沟眶象的S.tb.2、杨干象的S.t.b.3、光肩星天牛的S.t.b.1相似,推测其可能具有触觉和味觉功能,能对坑道内的糖、盐等食物信息做出反应(Eilers *et al.*, 2012; Zacharuk, 1980); Stb2和Stb4既存在于触角中,又分布于下颚须和下唇须的端部,前者端部具有花瓣状凹陷,直立于触角、下颚须和下唇须上,可以直接与坑道接触,而后者端部具有多个微孔,且环绕排列在下颚须和下唇须的端部,也是所有下颚须和下唇须上的最短感器类型,且与沟眶象、臭椿沟眶象、落叶松

八齿小蠹、云杉八齿小蠹的S.t.b.5、杨干象和光肩星天牛的S.t.b.6相似, Stb2可能为味觉器官, Stb4为嗅觉器官。Stb5的顶端有11条纵沟, Fernández *et al.* (1999)认为,纵沟可能是由众多的微孔构成的,但在高放大倍数下,本研究没有观察到微孔的存在。Stb.5外形与欧洲鳃金龟 *Melolontha melolontha* L.额须上的刺形感器4(S4)类似, TEM观察发现, S4有4~5个外部树突和一个管胞体(Eilers *et al.*, 2012)。考虑到Stb.5明显高于其他感器类型,推测Stb5可能具有机械和味觉的双重功能。Sdi也被称为板形感器,几乎分布于所有鞘翅目昆虫的下颚须上,包括雌、雄成虫,数量为1~61个(Beutel & Yavorskaya, 2019; Giglio *et al.*, 2003)。Zacharuk *et al.* (1977)用透射电镜观察,发现其没有典型的化学感受器应具有的多孔毛角质孔,且淋巴腔内仅有一个末端分支的树突,这是典型触觉机械感器的特征。随后的电生理研究证实,该感器对氨基酸、糖、盐和水没有反应,但是对接触和振动刺激有反应。考虑到横坑切梢小蠹幼虫生活在坑道内,加之小蠹亚科昆虫普遍存在摩擦震动通讯(Hofstetter *et al.*, 2019),推测Sdi应作为一种机械震动感器,对声信号具有感知能力。

幼虫头部感器的数量和形态亦存在个体间的差异,感器数量上主要体现在下颚须和下唇须上的Stb.2、Stb.4和Stb.5上,在每个唇须上的波动范围在1~2个,也包括同一个体的左、右唇须上。自然环境压力,包括温度、种群密度、食物质量、光周期等,能够引起昆虫表型发生改变,进而促使生物个体逐渐适应多变的环境因子(Diehl & Bush, 1984),使得每个唇须上的末梢锥形感器的数量增加或减少,很可能是横坑切梢小蠹应对外部环境的一种适应性进化(Glendinning, 2008)。在感器形态上,很少见到在同一位置出现不同形态的感器(徐丽丽, 2016; Altner *et al.*, 1981; Yang *et al.*, 2017, 2019; Zacharuk, 1980; Zacharuk & Shields, 1991),正如触角上的Sb.1和Stb.2。一般认为,化学感器的延伸、增粗、末端分支有利于提高其比表面积,进而提高感器的灵敏度(李宗波等, 2014),幼虫个体出现分支型的Sb.1很可能具有这样的功能,以利于其感知坑道内的不同的气味。另外,小蠹类昆虫的物种鉴定比较困难,且常常会出现错误,如分布于地中海沿岸的地中海切梢小蠹 *T. destruens* Woll和云南地

区的云南切梢小蠹,最初均被认为是纵坑切梢小蠹 *T. piniperda* (L.),后来用分子技术以及进一步的形态检查才确定为新物种。并且,在一些广泛分布的小蠹虫中,常常存在地理居群或者种团(species complex)。考虑横坑切梢小蠹分布范围广,加之云南地形地势复杂,海拔高度落差大,横坑切梢小蠹很可能会分化出不同的种团。若这种推测合理,一方面可以解释末端分叉的 Sb.1 占比较高的结果(占比 1/3),另一方面也意味着下一步可结合 DNA 标记和测序技术(如 SSR、COI、EF-1 α 和 28S)来验证横坑切梢小蠹是否存在种团,以期为实现个性化害虫区域性生态调控(area-wide pest management, AWPM)奠定科学基础。

参考文献

- 高艳飞,张英,张真,吴伟,2012.切梢小蠹蛀食云南松枝梢行为研究.东北林业大学学报,40(6):81-84.
- 戈峰,2020.论害虫生态调控策略与技术.应用昆虫学报,57(1):10-19.
- 韩潇,段彦丽,李秀芬,王志勇,张翌楠,乔鲁芹,2021.花绒寄甲 1 龄幼虫触角及口器传感器的超微结构.林业科学研究,34(2):180-184.
- 李宗波,杨培,赵健,杨大荣,2014.传粉榕小蜂雌蜂多孔板形感器的形态与适应进化.应用昆虫学报,51(4):1086-1097.
- 徐丽丽,2016.沟胫天牛亚科七种天牛不同虫态触角、下颚须和下唇须的感器研究.硕士学位论文.北京:北京林业大学.
- 叶辉,2011.云南切梢小蠹.昆明:云南科技出版社.
- 张梦蝶,钱路兵,泽桑梓,杨斌,李宗波,2021.云南切梢小蠹幼虫表皮碳氢化合物与龄数的相关性.林业科学,57(5):151-159.
- ALEKSEEV M A, SINITSINA E E, CHAIKA S Y, 2006. Sensory organs of the antennae and mouthparts of beetle larvae (Coleoptera). *Entomological Review*, 86(6):638-648.
- ALTNER H, ROUTIL C, LOFTUS R, 1981. The structure of bimodal chemo-, thermo-, and hygroreceptive sensilla on the antenna of *Locusta migratoria*. *Cell and Tissue Research*, 215(2):289-308.
- BEHAN M, RYAN M F, 1978. Ultrastructure of antennal sensory receptors of *Tribolium larvae* (Coleoptera: Tenebrionidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 7(3):221-236.
- BEUTEL R G, YAVORSKAYA M, 2019. Structure and evolution of mouthparts in Coleoptera // KRENN H W. *Insect mouthparts: form, function, development and performance*. Cham: Springer International Publishing: 387-418.
- BLAND R G, 1983. Sensilla on the antennae, mouthparts, and body of the larva of the alfalfa weevil, *Hypera postica* (Gyllenhal) (Coleoptera: Curculionidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 12(5):261-272.
- DIEHL S R, BUSH G L, 1984. An evolutionary and applied perspective of insect biotypes. *Annual Review of Entomology*, 29(1):471-504.
- EILERS E J, TALARICO G, HANSSON B S, HILKER M, REINECKE A, 2012. Sensing the underground-ultrastructure and function of sensory organs in root-feeding *Melolontha melolontha* (Coleoptera: Scarabaeinae) larvae. *PLoS ONE*, 7(7):e41357.
- FERNÁNDEZ M M F, ALONSO J A P, COSTAS J M S, 1999. Oviposition and development of the immature stages of *Tomicus minor* (Coleoptera, Scolytidae). *Agricultural and Forest Entomology*, 1(2):97-102.
- GIGLIO A, FERRERO E A, PERROTTA E, TRIPEPI S, BRANDMAYR T Z, 2003. Ultrastructure and comparative morphology of mouth-part sensilla in ground beetle larvae (Insecta, Coleoptera, Carabidae). *Zoologischer Anzeiger*, 242(3):277-292.
- GLENDINNING J I, 2008. Insect gustatory systems // MASLAND R H, ALBRIGHT T D, ALBRIGHT T D, MASLAND R H, DALLOS P, OERTEL D, FIRESTEIN S, BEAUCHAMP G K, BUSHNELL M C, BASBAUM A I, KAAS J H, GARDNER E P. *The senses: a comprehensive reference*. New York: Academic Press: 75-95.
- HOFSTETTER R W, AFLITTO N, BEDOYA C L, YTURRELLE K, DUNN D D, 2019. Vibrational behavior in bark beetles: applied aspects // HILL P S M, LAKES-HARLAN R, MAZZONI V, NARINS P M, VIRANT-DOBERLET M, WESSEL A. *Biotremology: studying vibrational behavior*. Cham: Springer International Publishing: 415-435.
- KEIL T A, 1996. Sensilla on the maxillary palps of *Helicoverpa armigera* caterpillars: in search of the CO₂-receptor. *Tissue and Cell*, 28(6):703-717.
- LIU F, WU C, ZHANG S, KONG X, ZHANG Z, WANG P, 2019. Initial location preference together with aggregation pheromones regulate the attack pattern of *Tomicus brevipilosus* (Coleoptera: Curculionidae) on *Pinus kesiya*. *Forests*, 10(2):156.
- MCKENNA D D, SHIN S, AHRENS D, BALKE M, BEZA-BEZA C, CLARKE D J, DONATH A, ESCALONA H E, FRIEDRICH F, LETSCH H, LIU S, MADDISON D, MAYER C, MISOF B, MURIN P J, NIEHUIS O, PETERS R S,

- PODSIADLOWSKI L, POHL H, SCULLY E D, YAN E V, ZHOU X, ŚLIPŃSKI A, BEUTEL R G, 2019. The evolution and genomic basis of beetle diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(49): 24729–24737.
- MORRISON W R, GROSIDIER R F, ARTHUR F H, MYERS S W, DOMINGUE M J, 2019. Attraction, arrestment, and preference by immature *Trogoderma variabile* and *Trogoderma granarium* to food and pheromonal stimuli. *Journal of Pest Science*, 93: 135–147.
- RUSCHIONI S, LORETO N, ISIDORO N, RIOLO P, 2019. Sensory structures on maxillary and labial palps of *Tenebrio molitor*. *Bulletin of Insectology*, 72(2): 309–316.
- SHI X, SHEN J C, ZHANG S F, LIU F, XU F Y, WANG G L, ZHANG Z, KONG X B, 2020. Comparative analysis of the type and number of larval sensilla on the antennae and mouthparts of *Ips typographus* and *Ips subelongatus* using SEM. *Zoologischer Anzeiger*, 289: 18–25.
- SPEIRS R D, WHITE G D, WILSON J L, 1986. SEM observations of rice weevil larvae, *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 59(2): 390–394.
- VEGA F E, HOFSTETTER R W, 2015. *Bark beetles: biology and ecology of native and invasive species*. San Diego: Academic Press.
- VISSER J H, 1988. Host-plant finding by insects: orientation, sensory input and search patterns. *Journal of Insect Physiology*, 34(3): 259–268.
- WERLE C T, RANGER C M, SCHULTZ P B, REDING M E, ADDESSO K M, OLIVER J B, SAMPSON B J, 2019. Integrating repellent and attractant semiochemicals into a push-pull strategy for ambrosia beetles (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Applied Entomology*, 143(4): 333–343.
- WU C X, LIU F, ZHANG S F, KONG X B, ZHANG Z, 2019. Semiochemical regulation of the intraspecific and interspecific behavior of *Tomicus yunnanensis* and *Tomicus minor* during the shoot-feeding phase. *Journal of Chemical Ecology*, 45(3): 227–240.
- XU L, ZHANG L, YANG Y, REN L, WANG T, ZONG S, 2017. Morphology of antennal, maxillary palp and labial palp sensilla in different larval instars of the Asian long-horned beetle, *Anoplophora glabripennis* (Motschulsky) (Coleoptera: Cerambycidae). *Acta Zoologica*, 98(1): 20–31.
- YANG Y, REN L, WANG T, XU L, ZONG S, 2017. Comparative morphology of sensilla on antenna, maxillary palp and labial palp of larvae of *Eucryptorrhynchus scrobiculatus* (Olivier) and *E. brandti* (Harold) (Coleoptera: Curculionidae). *Acta Zoologica*, 98(4): 400–411.
- YANG Y, REN L, XU L, WANG T, ZONG S, 2019. Comparative morphology of sensilla on the antennae, maxillary and labial palps in different larval instars of *Cryptorrhynchus lapathi* (Linnaeus) (Coleoptera: Curculionidae). *Zoologischer Anzeiger*, 283: 93–101.
- ZACHARUK R Y, ALBERT P J, BELLAMY F W, 1977. Ultrastructure and function of digitiform sensilla on the labial palp of a larval elaterid (Coleoptera). *Canadian Journal of Zoology*, 55(3): 569–578.
- ZACHARUK R Y, 1980. Ultrastructure and function of insect chemosensilla. *Annual Review of Entomology*, 25(1): 27–47.
- ZACHARUK R Y, 1985. Antennae and sensilla// Kerkut G A, Gilbert L I. *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology*. Oxford: Pergamon: 1–69.
- ZACHARUK R Y, SHIELDS V D, 1991. Sensilla of immature insects. *Annual Review of Entomology*, 36(1): 331–354.

(责任编辑:郭莹)