

DOI:10.12403/j.1001-1498.20220594

小粒绒盾小蠹 *Xyleborinus saxesenii* (Ratzeburg, 1873) 的形态和 分子鉴定

王子豪¹, 荣书利², 郝广斌³, 王婷婷⁴, 曹鹏⁴, 王俊平^{1*}

(1. 青岛农业大学植物医学学院, 山东 青岛 266109; 2. 山东省青岛市立邦高德有害生物防治有限公司, 山东 青岛 266109;
3. 青岛市森林防火监测预警中心 266061; 4. 崂山区自然资源局, 山东 青岛 266000)

摘要: [目的] 为明确青岛崂山区小蠹种类, 本研究对诱集到的小蠹进行分类鉴定, 更好地丰富生物多样性。[方法] 采用形态学观察和线粒体细胞色素氧化酶亚基 I (CO I) 序列分析的方法进行小蠹种类鉴定。[结果] 鉴定崂山区的 1 种小蠹为小粒绒盾小蠹, 隶属于象虫总科、小蠹亚科、绒盾小蠹属, 该小蠹的典型特征为鞘翅自斜面前缘开始, 沟间部具突起的颗粒, 由前向后略许增大, 成为纵列, 第 2 沟间部无颗粒, 与 2017 年吕坤鉴定的山核桃新害虫——小粒绒盾小蠹描述的形态特征一致。基于 CO I 基因序列的系统发育树 (ML 树) 显示, 该小蠹样本与美国和东南亚小粒绒盾小蠹样本序列聚成一支。[结论] 本文基于形态学和分子生物学两方面的鉴定, 明确该诱集到的小蠹为小粒绒盾小蠹并且该种在山东首次记录发现。此研究结果为小蠹快速 DNA 鉴定以及溯源分析提供基础数据。

关键词: 小粒绒盾小蠹; 分子鉴定; 形态特征

中图分类号: Q969.514.5

文献标识码: A

文章编号: 1001-1498(2023)03-0185-05

材小蠹族 (*Xyleborini*) 昆虫又称食菌小蠹, 是一类蛀干害虫同时具有经济意义, 隶属于鞘翅目 (Coleoptera), 象虫科 (Curculionidae), 小蠹亚科 (Scolytinae)^[1-2]。目前该族包括 37 属, 约 1 200 种^[2-3], 中国记载 10 属 42 种^[4]。材小蠹族类群主要取食木质部中的真菌, 堵塞疏导组织, 并且自身也携带真菌甚至携带病原体入侵植物并加速植物死亡^[5]。*Xyleborus glabratus* Eichhoff 所携带的病原菌, 就曾在美国的东南部造成了鳄梨 (*Persea americana* Mill.) 的大面积死亡, 并且在北美洲该族已经成为最具侵略性和攻击性的小蠹类蛀干害虫^[3,6]。

小粒绒盾小蠹 (*Xyleborinus saxesenii* (Ratzeburg, 1873)), 隶属于材小蠹族 (*Xyleborini*), 绒盾小蠹属 (*Xyleborinus*)。殷蕙芬^[7]

1984 年将材小蠹族的 32 种归在材小蠹属下, 1991 年材小蠹族分成 10 个属^[8], 1837 年, 小粒绒盾小蠹由 Ratzeburg 发现并定名为 *Bostrichus saxesenii*^[9-11], 该种有 21 个同物异名^[12-14], 多数学者将其称为小粒材小蠹 (*Xyleborus saxesenii*)^[15-16], 但此命名法未将材小蠹族分属, 本文根据形态学观察和测序结果, 将该材小蠹分到绒盾小蠹属下, 为小粒绒盾小蠹。

小粒绒盾小蠹主要分布在中国 (江西、云南、安徽、浙江、广西、福建、贵州、湖南、吉林、江苏、新疆、西藏、台湾、山西、陕西、四川), 朝鲜, 日本, 越南, 加拿大, 北美, 南美, 阿根廷, 巴西, 智利, 厄瓜多尔, 巴拉圭, 乌拉圭等^[11,17-18], 已知寄主包括橡胶树 (*Hevea brasiliensis*,

收稿日期: 2022-12-02 修回日期: 2023-01-13

基金项目: 林业有害生物预测预报 (660-2421104)

* 通讯作者: 王俊平, 博士, 副教授, 主要从事害虫防治研究, 电话: 18669813156, E-mail: junpingwang@qau.edu.cn

(H.B.K) Mull. Arg.), 五倍子树 (*Rhus chinensis*, Mill.), 山核桃 (*Carya cathayensis*, Sarg.), 苹果 (*Malus pumila*, Mill.), 云杉 (*Picea asperata*, Mast.), 栎树 (*Quercus stenophylla*, Makino), 杨梅 (*Myrica rubra*, (Lour.) S. et Zucc.), 柿子 (*Diospyros kaki*, Thunb.), 锥栗 (*Castanea henryi*, (Skan) Rehd. et Wils.), 桉属植物 (*Eucalyptus sp.*, L'Hér.), 槭属植物 (*Acer sp.*, L.), 松属植物 (*Pinus sp.*, Linn), 等^[14,16,18-21]。

2022年3月,在崂山地区设置多层漏斗型小蠹诱捕器,悬挂地的林分主要是黑松林,周围也有刺槐等阔叶树。在对崂山区小蠹种类监测过程中,发现小蠹诱捕器内收集到一种小蠹,经形态学和分子生物学鉴定。旨在为小蠹类蛀干害虫快速DNA鉴定以及溯源分析提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 虫源采集

2022年3月,在山东省青岛市崂山区(36.315929°N, 120.603775°E)设置小蠹诱捕器诱集昆虫成虫。

1.2 形态特征观察

采集到的样本储存于无水乙醇中,使用超景深显微镜(基恩士Kenyence VHX-7000)对小蠹的成虫形态特征进行观察和拍照。

1.3 分子生物学鉴定

随机抽取4头小蠹成虫,挑胸部和腹部组织,采用T5 Direct PCR Kit (Animal Tissue)试剂盒,提取个体基因组DNA,置于-20℃保存待用。

利用小蠹亚科通用引物S1718和A2411^[22]扩增COI基因,PCR扩增体系为2×T5 Direct PCR Kit (Animal Tissue) 13 μL, S1718 1 μL, A2411 1 μL, DNA模板2 μL和ddH₂O 8 μL共25 μL。PCR反应程序为94℃预变性3 min; 94℃变性45 s, 47.2℃退火1 min, 72℃延伸1 min,共进行35次循环; 72℃延伸10 min; 产物置于4℃保存。PCR扩增产物送北京擎科生物科技有限公司进行测序。

以COI基因序列建树:选取本试验的*X. saxesenii*序列(Genbank No. OP002147.1),来自Genbank的12条序列作为参考序列(表1),落叶松八齿小蠹(*Ips subelongatus* Motschulsky)(Genbank No. KC411952.1)作为外群,运用MAGA 7^[23]最大似然法(ML)构建系统发育树^[24-26]。

2 结果与分析

2.1 形态学鉴定

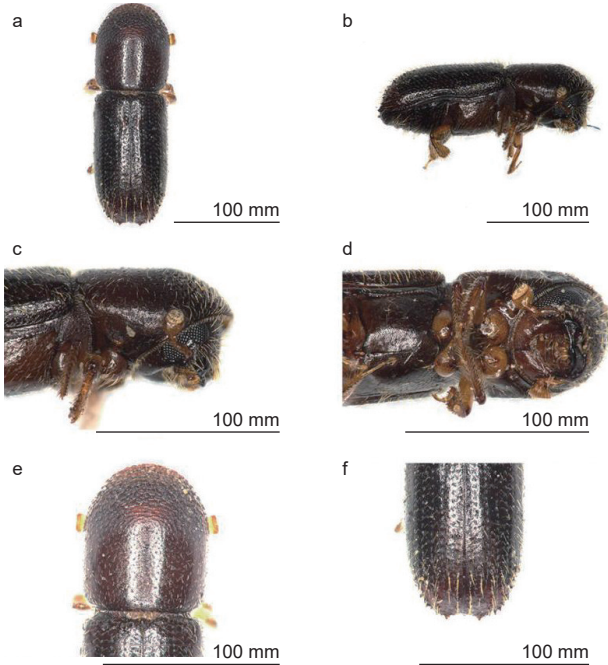
小粒绒盾小蠹体长2.0 mm,圆柱形,黑褐色,鞘翅后部及斜面颜色稍浅,红褐色,触角和足黄褐色(a、b)。复眼类似肾形,前缘中部具深的缺刻(c);触角锤状部端部有如经过切削而成的圆形剖面,其上具圆形毛缝(d);前胸背板背

表1 小蠹科昆虫相关建树序列信息

Table 1 Sequence information in tree construction of Scolytinae

Genbank登录号 Genbank accession No.	物种名称 Species	采集地 Location
OP002147.1	小粒绒盾小蠹 <i>X. saxesenii</i>	中国, 青岛 China: Qingdao
MK643403.1	小粒绒盾小蠹 <i>X. saxesenii</i>	美国, 科罗拉多州 USA: Colorado
MK643400.1	小粒绒盾小蠹 <i>X. saxesenii</i>	美国, 科罗拉多州 USA: Colorado
MT991655.1	小粒绒盾小蠹 <i>X. saxesenii</i>	美国 USA
MN620034.1	小粒绒盾小蠹 <i>X. saxesenii</i>	东南亚 Southeast Asian
MT991654.1	小粒绒盾小蠹 <i>X. saxesenii</i>	美国 USA
MW617396.1	纹盾材小蠹 <i>Xyleborinus artestriatus</i> Eichhoff	中国 China
MN620020.1	纹盾材小蠹 <i>Xyleborinus artestriatus</i> Eichhoff	东南亚 Southeast Asian
MW617443.1	<i>Xyleborinus actospinosus</i> Schaufuss	马达加斯加 Madagascar
MW617408.1	<i>Xyleborinus sharpae</i> Hopkins,	马达加斯加 Madagascar
MW617405.1	<i>Xyleborinus attenuatus</i> Blandford,	马达加斯加 Madagascar
OM422678.1	<i>Xyleborinus andrewesi</i> Blandford,	马达加斯加 Madagascar
KC411952.1	落叶松八齿小蠹 <i>Ips subelongatus</i> Motschulsky	中国 China

面观后方前圆,成长盾形(e)。鞘翅基部翅缝处下陷成坑,三角形,内生浓密绒毛,小盾片从中成锥状突起,易被绒毛遮盖(e);鞘翅侧面观鞘翅背缘前部2/3平直延伸,后部的1/3弓曲下降(b);鞘翅自斜面前缘开始,沟间部具突起的颗粒瘤,由前向后略许增大,成为纵列,第2沟间部无颗粒瘤(f)。如(图1)。



注: a.小粒绒盾小蠹成虫背面观; b.小粒绒盾小蠹成虫侧面观; c.小粒绒盾小蠹复眼缺刻; d.小粒绒盾小蠹触角; e.小粒绒盾小蠹前胸背板及鞘翅基部; f.小粒绒盾小蠹鞘翅末端

Notes: a. Dorsal view of adult of *X. saxesenii*; b. Lateral view of adult of *X. saxesenii*; c. Eyes broadly emarginated of *X. saxesenii*; d. Antennal of *X. saxesenii*; e. Pronotum and elytron base of *X. saxesenii*; f. The end of elytron of *X. saxesenii*

图1 小粒绒盾小蠹形态特征

Fig. 1 *X. saxesenii* is for morphological characteristics

2.2 成虫分子生物学鉴定

采集于青岛市崂山区诱捕器内的4头小蠹成虫样本,通过分子鉴定均属于同一物种;该小蠹CO I基因长度为698 bp(OP002147.1),经Blast对比可知,该小蠹与美国序列样本(MK643403.1、MK643400.1)和东南亚序列样本(MN620034.1)相似度达99%。ML系统发育树(图2)显示该小蠹(OP002147.1)与*X. saxesenii*聚为一支,但与同属不同种的纹盾材小蠹(*X. artestriatus*)(Eichhoff, 1878)(MW617396.1、MN620020.1)、*X. octospinosus*(MW617443.1)、

X. sharpae(MW617408.1)、*X. attenuatus*(MW617405.1)、*X. andrewesi*(OM422678.1)分在不同支上。

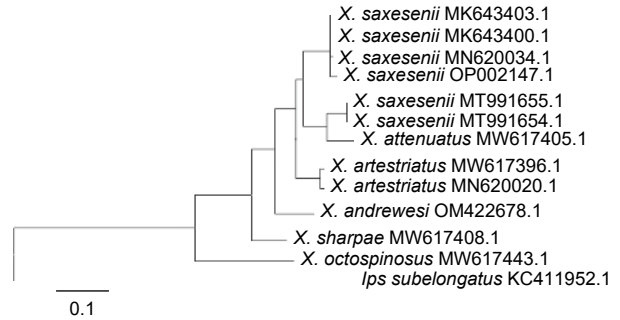


图2 基于CO I基因的绒盾小蠹属部分种类系统发育树(ML)

Fig. 2 Phylogenetic tree (ML) of several species within the genus *Xyleborinus* based on CO I gene

3 讨论

材小蠹族是重要的林业害虫,主要分布在热带和温带地区^[11],寄主广泛,包括针叶树和阔叶树,几乎终生生活在树木木质部中,难以被发觉。大多数种类蛀食衰弱树、倒木、濒死树木或死树^[27]。据刘章华等人^[21]报道小粒绒盾小蠹在浙江地区为害锥栗,1年发生3~5代,以成虫越冬,全年均可见到成虫。本研究中诱捕器监测到的小粒绒盾小蠹主要出现在4—6月,推测由于寄主、环境和地理因素因,该虫在崂山区的为害情况与浙江地区不同,且该虫只在诱捕器内发现,因此其寄主种类和生活史还有待研究。

本文并未对小粒绒盾小蠹雄虫进行描述,因为材小蠹族所有雄虫为单倍体^[28],相比雌虫体型短小,样貌丑陋无翅且数量少,通常不用来鉴定和描述使用^[29],在诱集过程中也未发现雄虫。

Cognato利用CO I基因研究了*Conophthorus sp.*的系统发生和地理环境与寄主对该属昆虫的影响^[30];常虹等区分了齿小蠹属*Ips sp.*的不同物种^[31];王银竹等研究了长小蠹科Platypodidae昆虫的系统发育关系^[32]。本研究在诱集过程中发现,诱集到的小粒绒盾小蠹在形态学上与同属的小蠹难以区分,或是因为肢体残缺而无法辨别,因此利用CO I基因序列比对进行小粒绒盾小蠹分子鉴定可以有效弥补形态鉴定的不足。

材小蠹族类群被称为食菌小蠹,通过以真菌覆盖的木材为食^[18],并可传播真菌或病原菌^[11]。据文

献记载, 1844年 Hartig 鉴定北方毛胸小蠹 (*Anisandrus dispar*, F.) 体内存在的共生菌为白落丛梗孢-*Monilia candida*, 到 1967年, Batra^[33] 鉴定该共生真菌为哈氏虫道真菌 (*Ambrosiella hartigii*, L.R. Batra), 王天龙^[34] 鉴定培养出 3 种足距小蠹属 (*Xylosandrus sp.*) 储菌器的共生真菌, 短翅足距小蠹 (*Xylosandrus brevis* Eichhoff)、*X. germanus* Blandford 的共生真菌均为哈氏虫道真菌, 黑色枝小蠹 (*Xylosandrus compactus* Eichhoff) 的共生真菌为 *Ambrosiella xylebori* Brader ex Arx & Hennebert。小粒绒盾小蠹共生真菌种类及联合作用方式有待进一步研究。

4 结 论

本文作者针对一种小蠹进行研究, 经形态学和分子生物学鉴定, 明确该诱集到的小蠹为小粒绒盾小蠹, 为山东首次报道, 研究结果丰富了生物多样性。该小蠹最主要的形态特征为鞘翅自斜面前缘开始, 沟间部具突起的颗瘤, 由前向后略许增大, 成为纵列, 第 2 沟间部无颗瘤, 该特征可作为小粒绒盾小蠹的鉴别特征。

参 考 文 献:

[1] 王志良, 张润志. 小蠹亚科的分类地位 (鞘翅目, 象虫科)[J]. 动物分类学报, 2012, 37 (2): 291-295.

[2] HULCR J, ATKINSON T H, COGNATO A I, *et al.* Morphology, taxonomy and phylogenetics of bark beetles, chapter 2[M]. Bark Beetles, Elsevier Inc., 2015, 41-84.

[3] COGNATO A I, HULCR J, DOLE S A, *et al.* Phylogeny of haplo-diploid, fungus-growing ambrosia beetles (Curculionidae: Scolytinae: Xylebori) inferred from molecular and morphological data[J]. Zoologica Scripta, 2011, 40(2): 174-186.

[4] 黄复生, 陆军, 张绍红等. 中国小蠹科分类纲要[M]. 上海: 同济大学出版社, 2015, 81-93.

[5] BEAVER R A. Biological studies of Brazilian Scolytidae and Platypodidae (Coleoptera): 5. tribe Xyleborini[J]. Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie-Journal of Applied Entomology, 1976, 80(1-4): 15-30.

[6] FRAEDRICH S W, HARRINGTON T C, RABAGLIA R J, *et al.* A fungal symbiont of the redbay ambrosia beetle causes a lethal wilt in redbay and other Lauraceae in the Southeastern United States[J]. Plant Disease, 2008, 92(2): 215-224.

[7] 殷蕙芬. 中国经济昆虫志 (第二十九册). 鞘翅目小蠹科[M]. 北京: 科学出版社, 1984.

[8] 殷蕙芬. 材小蠹族分属检索表[J]. 植物检疫, 1991, 5 (4): 273-

280.

[9] BRIGHT D E. Review of the tribe Xyleborini in America north of Mexico (Coleoptera: Scolytidae)[J]. The Canadian Entomologist, 1968, 100(12): 1288-1323.

[10] SAMUELSON G A. A synopsis of Hawaiian Xyleborini (Coleoptera: Scolytidae)[J]. Pacific Insects, 1981, 23(1-2): 50-92.

[11] BEAVER R A, LIU L Y. An annotated synopsis of Taiwanese bark and ambrosia beetles, with new synonymy, new combinations and new records (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)[J]. Zootaxa, 2010, 2602(2602): 1-47.

[12] RABAGLIA R J, DOLE S A, COGNATO A I, *et al.* Systematics-Review of American *Xyleborina* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) occurring North of Mexico, with an illustrated key[J]. Annals of the Entomological Society of America, 2006, 99(6): 1034-1056.

[13] 吕 佳, 赖盛昌, 田尚等. 江西材小蠹族 Xyleborini (Coleoptera: Scolytinae) 分类研究[J]. 环境昆虫学报, 2018, 40 (4): 840-852.

[14] 阿红昌, 赖盛昌, 段波等. 云南省橡胶树材小蠹族昆虫形态分类研究[J]. 热带农业科技, 2020, 43 (3): 1-12.

[15] 蔡 波, 赵 刚, 徐卫等. 海南口岸从比利时进境木质包装中截获 7 种小蠹 (鞘翅目, 象虫科)[J]. 植物检疫, 2013, 27 (2): 92-97.

[16] 吕 坤, 潘伟华, 胡钟予等. 山核桃新害虫——小粒绒盾小蠹 (鞘翅目: 小蠹科) 种类记述[J]. 中国森林病虫, 2017, 36 (2): 29-31.

[17] 周途. 云南橡胶树小蠹亚科昆虫种类调查及 DNA 条形码研究[D]. 南昌: 江西农业大学, 2020.

[18] GÓMEZ D, REYNA R, PÉREZ C, *et al.* First record of *Xyleborinus saxesenii* (Ratzeburg) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) in Uruguay[J]. Coleopterists Bulletin, 2013, 67(4): 536-538.

[19] 童 清, 张培毅. 桉树的 2 种小蠹虫调研初报[J]. 林业实用技术, 2012, 121 (1): 39-40.

[20] BIEDERMANN P H W, KLEPZIG K D, TABORSKY M. Fungus cultivation by Ambrosia beetles: behavior and laboratory breeding success in three Xyleborine species[J]. Environmental Entomology, 2009, 38(4): 1096-1105.

[21] 刘章华, 吴连海, 赖俊声等. 锥栗毁灭性蛀干害虫小蠹虫的防治[J]. 现代农业科技, 2009 (13): 158-159.

[22] JORDAL B H, SEQUEIRA A S, COGNATO A. The age and phylogeny of wood boring weevils and the origin of subsociality[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2011, 59(3): 708-724.

[23] SUDHIR K, GLEN S, KOICHIRO T. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets[J]. Molecular Biology & Evolution., 2016, 33(7): 1870-1874.

[24] ZINK, F A, TEMBROCK, L R, TIMM, A. E. A duplex ddPCR assay for simultaneously detecting *Ips sexdentatus* and *Ips typographus* (Coleoptera: Curculionidae) in bulk trap samples[J].

- Canadian Journal of Forest Research, 2019, 49(8): 903-914.
- [25] COGNATO A I, SARI G, SMITH S M, *et al.* The essential role of taxonomic expertise in the creation of DNA databases for the identification and delimitation of Southeast Asian Ambrosia beetle species (Curculionidae: Scolytinae: Xyleborini)[J]. Frontiers in Ecology and Evolution, 2020, 8: 27.
- [26] ELIASSEN J M, JORDAL B H. Integrated taxonomic revision of Afrotropical *Xyleborinus* (Curculionidae: Scolytinae) reveals high diversity after recent colonization of Madagascar[J]. Insect Systematics and Diversity, 2021, 5(3): 4.
- [27] BEAVER R A. Biological studies on ambrosia beetles of the Seychelles (Col., Scolytidae and Platypodidae)[J]. Journal of Applied Entomology, 1988, 105(1-5): 62-73.
- [28] NORMARK B B, Jordal B H, Farrell B D. Origin of a haplodiploid beetle lineage[J]. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 1999, 266(1435): 2253-2259.
- [29] 郑斯竹, 李 猷, 王书平. 中国纹盾材小蠹的鉴定和分布[J]. 环境昆虫学报, 2018, 40 (6): 1445-1450.
- [30] COGNATO A I, GILLETTE N E, BOLAÑOS R C, *et al.* Mitochondrial phylogeny of pine cone beetles (Scolytinae, Conophthorus) and their affiliation with geographic area and host[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2005, 36(3): 494-508.
- [31] 常 虹, 郝德君, 肖荣堂等. 基于线粒体CO I 基因的齿小蠹属昆虫DNA条形码研究[J]. 昆虫学报, 2012, 55 (9): 1075-1081.
- [32] 王银竹, 余道坚, 张润杰等. 基于mtDNA CO I 基因的十种长小蠹分子系统进化研究(鞘翅目: 长小蠹科)[J]. 昆虫学报, 2010, 53 (4): 457-463.
- [33] BATRA L R. Ecology of ambrosia fungi and their dissemination by beetles[J]. Transactions of the Kansas Academy of Science, 1963, 66(2): 213-236.
- [34] 王天龙. 绣球花上食菌小蠹及其主要虫道真菌的种类鉴定[D]. 雅安: 四川农业大学, 2012.

Morphology and Molecular Identification of *Xyleborinus saxesenii* (Ratzeburg, 1873) (Coleoptera: Scolytinae)

WANG Zi-hao¹, RONG Shu-li², HAO Guang-bin³, WANG Ting-ting⁴, CAO Peng⁴, WANG Jun-ping¹

(1. College of Plant Health & Medicine, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, Shandong, China; 2. Qingdao Libang Gaode Pest Control Co., Ltd, Qingdao 266109, Shandong, China; 3. Qingdao Forest Fire Early Warning and Monitoring Center, Qingdao 266061, Shandong, China; 4. Bureau of Natural Resources of Laoshan, Qingdao 266000, Shandong, China)

Abstract: [Objective] To identify the species of *Scolytinae* in Laoshan, the species of the collected *Scolytinae* were identified to enrich the biodiversity. [Method] The morphological characteristics of adults *Scolytinae* were observed and the sequences of the cytochrome oxidase subunit I (CO I) was analyzed to identify the insect. [Result] A kind of *Scolytinae* was identified as *Xyleborinus saxesenii* in Laoshan, belonged to *Curculionidae*, *Scolytinae*, *Xyleborinus*. The typical characteristics of A were the intersulci, which slightly increased from front to back, had protruding granule in elytron starting from the front edge of the slant, and formed a longitudinal row, but there was no granule in the second intersulcus. It was consistent with the morphological characteristics of one new record species of bark beetle——*Xyleborinus saxesenii* (Ratzeburg, 1873) by LYU kun, which was clustered with the sample sequences of the American and Southeast Asian beetle. [Conclusion] Based on both morphological and molecular biological identification, this insect is clearly identified as a *Xyleborinus saxesenii* and is firstly reported in Shandong. The results of this study provide basic data for the rapid DNA identification of the *Scolytinae*.

Keywords: *Xyleborinus saxesenii*; molecular identification; morphological characters

(责任编辑: 崔 贝)