

斜纹夜蛾前胸腺的生长发育研究*

徐 博, 李广宏, 王方海

(中山大学有害生物控制与资源利用国家重点实验室, 广东 广州 510275)

摘 要: 通过解剖观察4龄至蛹期斜纹夜蛾前胸腺, 对其形态特点和生长发育规律进行了研究, 主要结果如下: 发现斜纹夜蛾前胸腺由53个左右的圆形或椭圆型细胞成串组成, Y型, 成对, 外围包裹一层透明鞘膜, 位于胸部第一气门的气管丛内; 在斜纹夜蛾4龄至蛹期的发育过程中, 前胸腺不发生有丝分裂, 细胞数量基本恒定; 前胸腺细胞直径在幼虫发育期间不断增大, 斜纹夜蛾幼虫在4龄第1天的前胸腺直径为 $(28.80 \pm 0.47) \mu\text{m}$, 而到了6龄末期, 则增加到 $(92.22 \pm 2.43) \mu\text{m}$; 幼虫期的斜纹夜蛾前胸腺细胞直径和虫体质量呈显著相关, $r=0.826$, $P=0.000$, 拟合曲线方程为 $Y=82.1X^{0.263}$; 此外, 幼虫期的斜纹夜蛾前胸腺细胞直径和虫体体长也呈现出显著相关, $r=0.886$, $P=0.000$, 拟合曲线方程: $Y=e^{(4.781-1.863/Z)}$ 。

关键词: 斜纹夜蛾; 前胸腺; 生长发育

中图分类号: Q965 文献标志码: A 文章编号: 0529-6579 (2012) 02-0097-04

Research on the Development of Prothoracic Glands of *Spodoptera litura*

XU Bo, LI Guanghong, WANG Fanghai

(State Key Laboratory for Biocontrol and Institute of Entomology, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: The morphology and regular pattern of prothoracic glands of *Spodoptera litura* were researched by dissecting these glands from the 4th instar larvae to pupation. The result showed that the prothoracic glands of *S. litura* were in pair with Y-type, consisted of 53 round or oval cells, surrounded with transparent vaginal tunica, and located in the tracheal plexus of the first spiracle. The cells of prothoracic glands kept steady because of no mitosis from the 4th instar larvae to pupation. The diameter of prothoracic gland cells was increased gradually during larval developments, the diameter of prothoracic gland cells from the larva at the first day of the 4th instar was $(28.80 \pm 0.47) \mu\text{m}$, while the diameter of prothoracic gland cells from the larva at the last day of 6 instar was $(92.22 \pm 2.43) \mu\text{m}$. There were significant relevance between the diameter of prothoracic gland cells and the weight of larva during the larval development, $r=0.826$, $P=0.000$, $Y=82.1X^{0.263}$. There were also significant relevance between the diameter of prothoracic gland cells and the body length of larva during the larval development, $r=0.886$, $P=0.000$, $Y=e^{(4.781-1.863/Z)}$.

Key words: *Spodoptera litura*; prothoracic gland; development

斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 也称莲纹夜蛾, 属鳞翅目、夜蛾科害虫, 是一种世界性分布的农业害虫。其食性杂, 可危害 99 科 290 种植物; 繁殖力

强, 一年可发生多代, 如在我国华南地区一年可发生 6~9 代。由于分布广, 食性杂, 繁殖力强, 该虫目前已成为我国危害非常严重的农业害虫^[1]。

* 收稿日期: 2011-07-12

基金项目: 广东省自然科学基金资助项目 (S2011010001353, 031628); 有害生物控制与资源利用国家重点实验室资助创新课题 (SKLBC10B03); 农业虫害综合防治研究国家重点实验室开放课题 (ChineseIPM1003)

作者简介: 徐博 (1987年生), 男, 硕士生; 通讯作者: 王方海; E-mail: lsswfh@mail.sysu.edu.cn

前胸腺是昆虫体内最重要的内分泌器官之一,最早由 Toyama^[2] 在 1902 年的研究中发现并称之为气门下腺,1930 年 Ke^[3] 首先称之为前胸腺并对其部分特点进行了描述, Fukuda^[4] 1941 年则进一步阐明前胸腺在家蚕发育中的重要作用。目前普遍认为前胸腺的功能是合成和分泌蜕皮激素,从而对昆虫的生长、发育、蜕皮等一系列生理活动起着重要的调控作用^[5-6]。由于前胸腺接近透明,且非常细小,一般不容易解剖分离到,故有关前胸腺生长发育的研究报道很少,特别是有关斜纹夜蛾的前胸腺研究还未见报道。本课题组在摸索出斜纹夜蛾前胸腺的快速解剖方法后,对不同发育时期的前胸腺进行解剖对比,以明确其生长发育变化,为今后寻找新的有效防治措施提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 斜纹夜蛾饲养

虫源由中山大学昆虫学研究所养虫室提供,在 $(27 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、14:10 (L:D)、RH 70% 的条件下,用人工饲料饲养繁殖^[7]。

1.2 前胸腺的解剖和数据记录

由于低龄期斜纹夜蛾虫体较小,很难解剖到完整的前胸腺,而成虫期前胸腺已逐渐降解,因此我们从 4 龄斜纹夜蛾幼虫开始解剖,直至蛹。此外,4 龄斜纹夜蛾的前胸腺细胞排列紧密、间隙较小,难以精确记数,所以从 5 龄斜纹夜蛾开始记录细胞数量。

从饲养盒中取斜纹夜蛾,将其转移至平皿中,解剖前先测定其体质量和体长。具体解剖方法如下:左手持虫,右手持剪,将头部和前胸部从斜纹夜蛾前胸第一气门处剪断,放在滴加有鳞翅目生理盐水的载玻片上。在解剖镜下,移动头胸部,使其腹面向上,用尖头镊子将腹壁从中间向两侧撕开,使起始于左、右气门进入头部的支气管显现暴露,在头胸接合处夹断伸入头部的支气管,分离头胸,弃除头部。用镊子从中间将胸部组织撕开分为两部分,从每一部分的气管丛中小心分离出前胸腺,置于新鲜的鳞翅目生理盐水中漂洗 2 次。

在荧光体视显微镜 (ZEISS SteREO Lumar V12) 下观察解剖到的前胸腺结构,测量前胸腺细胞大小 (每个前胸腺取 6 个细胞进行测定,取平均值),记录腺体细胞数量并拍照,重复 6~8 次。

1.3 数据统计分析

采用 SPSS Statistics V17.0 软件进行差异显著性、相关性和回归分析等数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 解剖获取前胸腺的情况

共解剖不同发育时期的虫体 120 头 (从 4 龄幼虫到蛹),获得较完整前胸腺 109 对,解剖成功率高达 90.83%,平均每对前胸腺解剖用时为 9'28"。

2.2 前胸腺的形态观察

斜纹夜蛾前胸腺位于胸部第一气门的气管丛内,由圆形或椭圆型细胞成串组成,呈 Y 型,成对,外围包裹一层透明鞘膜。低龄期前胸腺细胞为无色透明,随着龄期增长细胞颜色逐渐变为半透明乳白色。前胸腺整体按其形态可分为杆部和枝部,杆部为多细胞串并行排列,粗短,杆部细胞起始于主气管和气门连接处,枝部多为单串细胞,细长,两枝末尾细胞各连接于支气管壁或腹壁上,并且有微气管伸入腺细胞处给细胞供氧 (如图 1)。

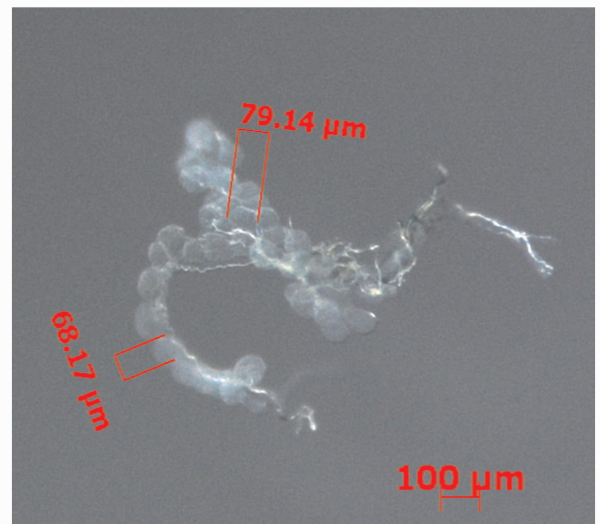


图 1 斜纹夜蛾 6 龄第 2 天前胸腺

Fig. 1 Prothoracic gland of *S. litura* at the second day of 6 instar

2.3 斜纹夜蛾前胸腺的细胞大小及数量变化

我们测定了不同发育期前胸腺细胞的直径,结果见表 1,从 4 龄第 1 天到 6 龄末期,细胞直径呈现出不断增加的趋势,4 龄第 1 天斜纹夜蛾幼虫的前胸腺直径为 $28.80 \pm 0.47 \mu\text{m}$,而到了 6 龄末期,前胸腺直径增加到 $(92.22 \pm 2.43) \mu\text{m}$,共增长了 3 倍多。预蛹和蛹期的前胸腺直径维持在 $100 \mu\text{m}$ 左右,变动幅度不是很大,没有明显的增长或下降趋势。

斜纹夜蛾不同发育期前胸腺细胞数量见表 1,基本维持在 53 个左右,最低的为 47 个,最高的为

55 个, 上下变化幅度很小, 估计这种数量上的微小差异很可能是解剖过程中导致某些细胞损失脱落所致。Duncan 检验不同时期的细胞数量都没有显著性差异, 并且在斜纹夜蛾 4 龄至蛹期的发育过程中没有发现有丝分裂, 说明斜纹夜蛾前胸腺的细胞数量在生长发育过程中基本保持恒定。

表 1 斜纹夜蛾前胸腺细胞直径和数量变化

Table 1 The change of quantity and diameter of prothoracic gland cells of *S. litura*

龄期	细胞直径/ μm	细胞数量/个
4 龄第 1 天	28.80 \pm 0.47a	—
4 龄第 2 天	35.13 \pm 1.07b	—
5 龄第 1 天	45.19 \pm 0.62c	49.00 \pm 2.52a
5 龄第 2 天	58.79 \pm 1.17d	53.66 \pm 0.88a
5 龄第 3 天	61.82 \pm 1.06d	48.00 \pm 4.04a
6 龄第 1 天	63.43 \pm 1.50d	54.65 \pm 2.60a
6 龄第 2 天	76.38 \pm 1.08e	46.56 \pm 1.45a
6 龄第 3 天	79.79 \pm 1.19e	53.33 \pm 2.19a
6 龄第 4 天	92.22 \pm 2.43f	51.33 \pm 1.76a
预蛹第 1 天	99.67 \pm 3.40gh	47.00 \pm 1.73a
预蛹第 2 天	100.55 \pm 1.95gh	53.33 \pm 1.45a
蛹第 1 天	103.13 \pm 3.09h	54.00 \pm 2.08a
蛹第 2 天	109.22 \pm 2.62i	52.33 \pm 3.67a
蛹第 3 天	94.63 \pm 3.99fg	55.00 \pm 2.51a
蛹第 4 天	102.59 \pm 2.87h	49.00 \pm 3.06a
蛹第 5 天	97.42 \pm 2.52fgh	50.66 \pm 2.73a

注: 表中数据为平均值 \pm 标准误。同列中小写字母相同者, 表示两者间差异不显著; 小写字母不同, 则表示差异显著

2.4 斜纹夜蛾体质量、体长变化

斜纹夜蛾体质量在幼虫期不断增加, 4 龄第 1 天幼虫的体质量仅为 (0.029 3 \pm 0.000 7) g, 而到了 6 龄末期的幼虫体质量则增加到 (1.154 9 \pm 0.051 1) g, 共增加了近 40 倍。由于预蛹和蛹期已停止取食, 不再生长, 主要完成变态的变化, 此时体内不但食物大大减少, 且水分也散失很多, 故在此期间, 与 6 龄幼虫相比, 体质量明显下降, 预蛹第 1 天的体质量仅有 (0.392 1 \pm 0.008 3) g, 蛹第 1 天的体质量略低于预蛹第 1 天的体质量, 为 (0.349 2 \pm 0.005 2) g。因预蛹期和蛹期体质量相对恒定, 变化幅度很小, 故这里只列出预蛹第 1 天和蛹第 1 天的体质量数据 (见表 2)。

斜纹夜蛾体长在幼虫期也是呈不断增加的趋势, 4 龄第 1 天幼虫的体长为 (1.34 \pm 0.01) cm, 6 龄期的幼虫体长最高则达到 (4.30 \pm 0.02) cm,

共增加了 3 倍多, 与前胸腺细胞直径的增长趋势类同。与 6 龄幼虫相比, 预蛹和蛹的体长明显下降, 预蛹第 1 天的体长为 (2.40 \pm 0.03) cm, 蛹第 1 天的体长则只有 (1.90 \pm 0.02) cm。同样因为预蛹期和蛹期体长相对恒定, 故也只列出了预蛹第 1 天和蛹第 1 天的体长数据 (见表 2)。

表 2 斜纹夜蛾 4 龄到蛹期体质量、体长变化

Table 2 The change of weight and length of *S. litura* from the 4th instar larvae to pupation

龄期	体质量/g	体长/cm
4 龄第 1 天	0.029 3 \pm 0.000 7	1.34 \pm 0.01
4 龄第 2 天	0.042 6 \pm 0.001 2	1.46 \pm 0.05
5 龄第 1 天	0.060 1 \pm 0.001 9	1.74 \pm 0.02
5 龄第 2 天	0.194 7 \pm 0.003 4	2.54 \pm 0.03
5 龄第 3 天	0.262 2 \pm 0.004 0	2.91 \pm 0.03
6 龄第 1 天	0.510 0 \pm 0.009 2	3.51 \pm 0.02
6 龄第 2 天	0.852 2 \pm 0.017 9	4.22 \pm 0.02
6 龄第 3 天	1.053 2 \pm 0.015 4	4.30 \pm 0.02
6 龄第 4 天	1.154 9 \pm 0.051 1	4.16 \pm 0.07
预蛹第 1 天	0.392 1 \pm 0.008 3	2.40 \pm 0.03
蛹第 1 天	0.349 2 \pm 0.005 2	1.90 \pm 0.02

2.5 斜纹夜蛾前胸腺细胞直径和虫体体质量、体长相关性分析

由于前胸腺细胞直径和虫体体质量、体长在幼虫期都有逐渐增加的趋势, 分别对前胸腺细胞直径和虫体体质量、前胸腺细胞直径和虫体体长间进行相关性分析, 结果显示:

斜纹夜蛾前胸腺细胞直径和虫体体质量在幼虫期呈显著相关, $r=0.826$, $P=0.000$ 。通过曲线拟合分析, 幂曲线拟合最优, 曲线方程: $Y=82.1X^{0.263}$ (Y : 细胞大小; X : 体质量)。

斜纹夜蛾前胸腺细胞直径和虫体体长在幼虫期亦呈现出显著相关, $r=0.886$, $P=0.000$ 。通过曲线拟合分析, S 型曲线拟合最优, 曲线方程: $Y=e^{(4.781-1.863/Z)}$ (Y : 细胞大小; Z : 体长)。

3 讨 论

这是首次有关斜纹夜蛾前胸腺的解剖方法报道, 该方法速度快, 平均每对前胸腺解剖用时少于 10', 同时解剖成功率又很高, 达 90.83%。在解剖中尤其需要注意的是, 由于气门基部气管众多, 且支气管互相交错, 而前胸腺恰恰是几十个细胞所组成的几乎透明的呈 Y 型分叉结构的丝状物, 解剖时发现其常和气管互相缠绕在一起, 不易区分和分

离,故在分离缠绕在一起的气管和前胸腺时要极其小心谨慎,否则很容易造成前胸腺部分细胞缺失。

斜纹夜蛾前胸腺在幼虫期体积不断增大,6龄末期的体积几乎是4龄初期的10倍左右,而细胞数量在幼虫不同发育期差异不明显,每个前胸腺基本维持在53个细胞左右,未发现有丝分裂的存在。这些说明斜纹夜蛾前胸腺细胞在幼虫生长发育过程中,能够不断长大,但不进行分裂,数量不会增多,这与前人的观念比较一致^[8-9]。导致前胸腺细胞成倍增大的原因可能是:细胞不断进行物质积累和DNA合成,但不发生有丝分裂,而引起细胞体积的不断增长^[10]。

本研究发斜纹夜蛾前胸腺细胞直径在幼虫期与虫体体质量和体长均存在高度相关,因此我们可以通过虫体的体质量或体长来预估虫体内前胸腺的大小和发育情况,从而免去繁琐的解剖过程,省时省力,同时也为那些实验过程中必须保持活体进行连续观察的研究(不能进行解剖,否则,导致虫体死亡)提供了一个间接途径来评估前胸腺的生长发育情况。

由于前胸腺是昆虫的重要内分泌器官,我们的研究发现斜纹夜蛾前胸腺在幼虫的整个生长发育过程中不断长大,如果阻断或减缓其增大,应该会对虫体的生长发育造成一定的影响。然而通过何种方法或药剂可以阻断或减缓前胸腺的生长,文献未见报道;此外,前胸腺的生长阻断到何种程度可以严重影响虫体的发育,甚至导致其死亡,我们也不是很清楚。这些都有待今后进一步研究,

参考文献:

- [1] 邓海滨,王晓容,陈永明. 不同寄主作物对斜纹夜蛾分布和生长发育的影响研究[J]. 广东农业科学, 2006, 4: 53-55.
- [2] TOYAMA K. Contributions to the study of silk-worms. I. On the embryology of the silkworm [J]. Bull Coll Agric Tokyo Imp Univ, 1902, 5: 73-118.
- [3] KE O. Morphological variation of the prothoracic gland in the domestic and the wild silkworm [J]. Bult Sci Fakult Terkult Kyushu Imp Fukuoka, 1930, 4: 12-21.
- [4] FUKUDA S. Role of the prothoracic gland in differentiation of the imaginal characters in the silkworm pupa [J]. Annotationes Zoologicae Japonensis, 1941, 20: 9-13.
- [5] 王方海,龚和. 滞育和非滞育棉铃虫血淋巴中类固醇蜕皮素含量变化的比较[J]. 昆虫学报, 1997, 40(3): 261-264.
- [6] 张琼秀,孙梓暄,李广宏,等. 外源激素对褐飞虱翅型分化的影响[J]. 中山大学学报:自然科学版, 2007, 46(3): 76-78.
- [7] 陈其津,李广宏,庞义. 饲养五种夜蛾科昆虫的一种简易人工饲料[J]. 昆虫知识, 2000(6): 325-327.
- [8] AGGARWAL S K, KING R C. A comparative study of the ring glands from wild type and 1(2) *gl* mutant *Drosophila melanogaster* [J]. Journal of Morphology, 1969, 129: 171-199.
- [9] 王方海,龚和,钦俊德,等. 滞育和非滞育棉铃虫前胸腺的形态解剖学比较研究[J]. 昆虫学报, 1999, 42(1): 44-47.
- [10] DORN A, ROMER F. Structure and function of prothoracic glands and oenocytes in embryos and last larval instars of *Oncopeltus fasciatus* Dallas (Insecta, Heteroptera) [J]. Cell and Tissue Research, 1976, 171: 331-350.