

绵山天幕毛虫性信息素分泌腺研究

李咏玲¹, 曹天文², 张金桐¹

(1. 山西农业大学 化学生态研究所, 山西 太谷 030801; 2. 山西省农业科学院 植保所, 山西 太原 030032)

摘要:对绵山天幕毛虫雌蛾性信息素分泌腺进行了扫描电镜和透射电镜观察,结果表明:绵山天幕毛虫性信息素分泌腺位于腹部末端8~9间节间膜上,是一个可外翻的环状结构,腺体细胞为柱状,表皮分为2层:外表皮和内表皮。质膜上分布着微绒毛,并与内表皮连接。细胞质中含有液泡、线粒体、脂质粒、光面内质网。了解绵山天幕毛虫性信息素分泌腺位置、形态结构,对了解性信息素的合成和释放几率、改进性信息素的提取分离鉴定有重要意义。

关键词:绵山天幕毛虫;性信息素分泌腺;组织学

中图分类号:S436.64 文献标识码:A 文章编号:1000-7091(2012)02-0226-04

Study of Sex-pheromone-producing Gland in *Malacosoma rectifascia* Lajonquère

LI Yong-ling¹, CAO Tian-wen², ZHANG Jin-tong¹

(1. Institute of Chemical Ecology, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China;

2. Institute of Plant Protection, Shanxi Academy of Agricultural Science, Taiyuan 030032, China)

Abstract: The location and structure of sex-pheromone-producing gland in female *M. rectifascia* Lajonquère were studied by means of scanning electron microscope (SEM) and transmission electron microscope (TEM). The study showed that the pheromone-producing gland is a modified intersegmental membrane as a eversible ring of glandular epithelium between the 8th and 9th abdominal segments, the gland cell is columnar, the cuticle has two layer: epicuticle and endocuticle, microvilli are distributed on the cytoplasmic membrane and linked with endocuticle, the cell contains vacuole, mitochondrion, lipid granule and smooth endoplasmic reticulum.

Key words: *Malacosoma rectifascia* Lajonquère; Sex-pheromone-producing gland; Histology

绵山天幕毛虫(*Malacosoma rectifascia* Lajonquère)属鳞翅目枯叶蛾科,又名桦树天幕毛虫,是天然次生林最严重的害虫之一,在山西、河北、内蒙的一些林区普遍大面积发生。幼虫主要为害桦树,严重时成片的桦树叶片会被食光;也为害黄刺梅、山杨、山柳、五角枫、落叶松、胡枝子、山杨、柞树等,可使立木年生长量降低1/2,严重影响了农牧业和林业生产。据《中国森林昆虫》记载,其是国内首次在山西成灾的暴食性害虫^[1],在传统防治中,主要还是以化学防治为主^[2],其低效、污染环境、伤害益虫,而利用性信息素防治害虫可以避免化学防治所引起的环境污染,具有专一性强、生物安全、对害虫天敌有益等优点。近年来,国内外都很重视这一新技术的研究^[3-6]。

鳞翅目昆虫性信息素腺体的形态学和组织学已

被国内外许多学者进行了研究^[7-9],但迄今除李咏玲等^[10]对绵山天幕毛虫性信息素通讯系统进行了初步观察外,还未见有对该虫性信息素分泌腺组织学的相关报道。本研究利用风洞技术以及扫描电镜和透射电镜结合起来,通过对雌蛾腹尖末端提取物的诱蛾活性测定及对腹尖表面形态和内部结构观察,对绵山天幕毛虫雌蛾性信息素腺体位置、组织及细胞结构进行了研究,旨在为其性信息素快速准确地提取、分离和鉴定奠定基础,探索一种防治绵山天幕毛虫的新方法。

1 材料和方法

1.1 试验昆虫

在山西省关帝山林区、河北省怀来县山区采集绵山天幕毛虫虫茧,置于60 cm×50 cm×50 cm的

收稿日期:2011-11-30

基金项目:山西农业大学科技创新基金项目(2005011);国家自然科学基金项目(31070581)

作者简介:李咏玲(1976-),女,山西浑源人,讲师,在读博士,主要从事化学生态研究。

通讯作者:张金桐(1956-),男,山西翼城人,教授,博士,博士生导师,主要从事生物信息化学研究。

纱笼中,室内温度(25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 60% ~ 70%,光照 14L:10D。待羽化后雌雄分开饲养。

1.2 不同当量性信息素粗提物的风洞试验

于羽化第 1 天剪取正处于求偶状态的绵山天幕毛虫雌蛾腹部末端,在解剖镜下再剪下腹部第 8~9 节间的节间膜,立即浸入正己烷溶剂中 2 h 后,滤去节间膜,制成粗提液,吹氮气浓缩至 0.3 mL。以 3, 8, 13 FE 分别滴入凹形橡皮诱芯中进行风洞试验,观察试验所使用的风洞^[11-12],长 2 m、宽 1 m、高 1 m,风速 0.5 m/s。诱芯悬挂在上风口处,在风洞的另一端(下风口)、距底部约 40 cm 的置物架侧臂上夹有一可开启的不锈钢纱笼,用于放置绵山天幕毛虫 1 日龄雄蛾,受试雄蛾只使用 1 次,测试在自然条件下,从 20:00 开始,每头雄蛾释放以后开始计时 5 min 后结束。记录其飞行行为,并根据其行为,判断绵山天幕毛虫雄蛾对不同当量性信息素粗提物反应的等级。3 次重复,每次重复测试 10 头雄蛾。以 1 日龄活处女雌蛾作为对照。

1.3 扫描电镜样品的制备

取羽化后 1 d 的处女雌蛾,于 20:00–21:00 取召唤状态雌蛾^[13],挤压雌蛾腹部使其腹尖末端完全裸露,在第 6~7 节处用细绳扎紧;然后在解剖镜下剪下腹尖部分,用 0.9% 的生理盐水漂洗除去附着物,用 pH 值为 7.2 的磷酸缓冲液配制的 2.5% 戊二醛液固定 2 h,酒精脱水,临界点干燥,用导电胶黏于样品台上,JFC-4100 型离子喷射仪喷金,用 JSH-35CF 型扫描电镜观察。

1.4 透射电镜样品的制备

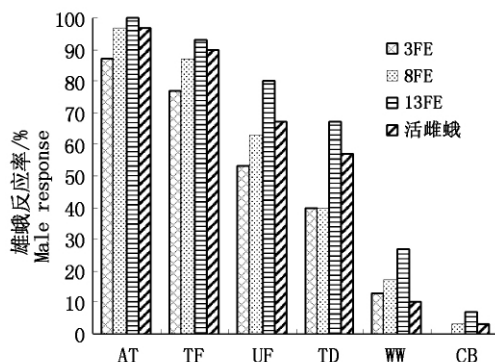
雌蛾腺体放入 2.5% 戊二醛溶液中固定 2 h,用 pH 值为 7.2 的二甲砷酸钠缓冲溶液洗涤 3 次,每次 15 min;再用 1% 的锇酸溶液固定 2 h,用二甲砷酸钠缓冲液洗涤数次,乙醇梯度脱水,Epson812 树脂包埋,UC6 切片机切片、染色,最后用 JSM-4400 透射电子显微镜观察。

2 结果与分析

2.1 不同当量性信息素粗提物的风洞试验结果

通过风洞试验对不同当量雌性信息素粗提物进行测试,结果(图 1)表明:不同当量的提取物都可以刺激雄蛾产生一定的反应,基本上都能刺激雄蛾兴奋,但随着反应等级的提升,雄蛾的反应率逐渐下降。3 FE、8 FE 提取物能刺激雄蛾达到性信息素源的百分率都显著低于活雌蛾,且 3 FE 粗提物不能刺激雄蛾产生交尾行为,说明活雌蛾比 3 FE 粗提物具有较高的诱蛾活性。13 FE 提取物能刺激雄蛾产生

一系列行为,且反应率高于 3 FE、8 FE。表明绵山天幕毛虫雌蛾腹部末端提取物对雄蛾明显的诱蛾活性,且随雌蛾提取个数的增多诱蛾活性提高,说明绵山天幕毛虫性信息素腺体可能就位于雌蛾腹部末端。



AT. 兴奋; TF. 起飞; UF. 定向飞行距离; TD. 达到性信息素源; WW. 搜索释放源; CB. 预交尾。

AT. Walking and wingfanning during activation phase in the release cage; TF. Taking flight; UF. Oriented upwind flight and arrival to the middle of tunnel; TD. Touchdown at source; WW. Walking and wingfanning at source; CB. Copulatory behaviour.

图 1 雄蛾在风洞中对不同雌蛾当量的提取物的反应

Fig. 1 Percentage of males responding to different females extraction in wind tunnel

2.2 性信息素腺体的一般形态

绵山天幕毛虫雌蛾静止时,节间膜随第 8~9 腹节一起套缩在第 7 腹节之内,求偶时,其腹部 8~10 节突出,性信息素腺体(8~9 节节间膜)外露(图 2)释放性信息素。在扫描电镜下可观察到,绵山天幕毛虫性信息素分泌腺位于腹部末端 8~9 间节间膜上,第 8 节为一个灰色的环状骨片,分布着长短不等的刚毛,而在八九节的节间膜有许多褶皱突出体,但无刚毛,第 9 节为一个骨化的产卵瓣(图 3)。高倍镜下腺体表面分布着大量饱满的刺状突出体(图 4、图 5),分泌腺细胞存在于这些刺状突出体处。这些突出体可增大腺体表皮表面积,使在求偶过程中,便于腺体外露时性信息素的释放和保存腺体表面分泌的性信息素^[8]。

2.3 性信息素腺体的组织结构

在透射电镜下可见(图 6),分泌腺是由第八第九间的节间膜特化而成,是一个环状结构,细胞的基膜基褶较多。表皮分 2 层,外表皮着色深、较薄,表皮表面并不平整,有乳头状隆起,其增大了与外界的接触面,有利于保存腺体分泌的性信息素和性信息素的释放。内表皮着色浅、较厚,含有多层状几丁质。顶端细胞膜皱褶,形成微绒毛,并与内表皮连接。腺体细胞呈柱状,在细胞质内有丰富的光面内质网,粗面内质网数量较少,内质网间分布着大小不等的脂肪粒。细胞质内还有线粒体、溶酶体、液泡等细胞器。



图2 召唤状态的绵山天幕毛虫

Fig.2 Calling *M. rectifascia* Lajonquère

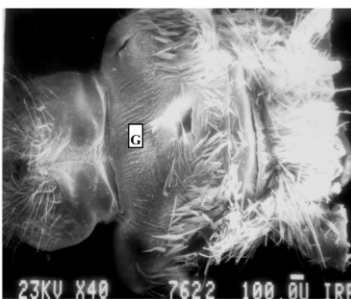


图3 腹部末端扫描电镜照片(40×)

Fig.3 Sem. of abdominal tip

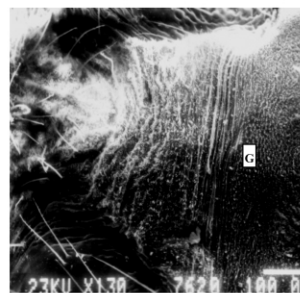


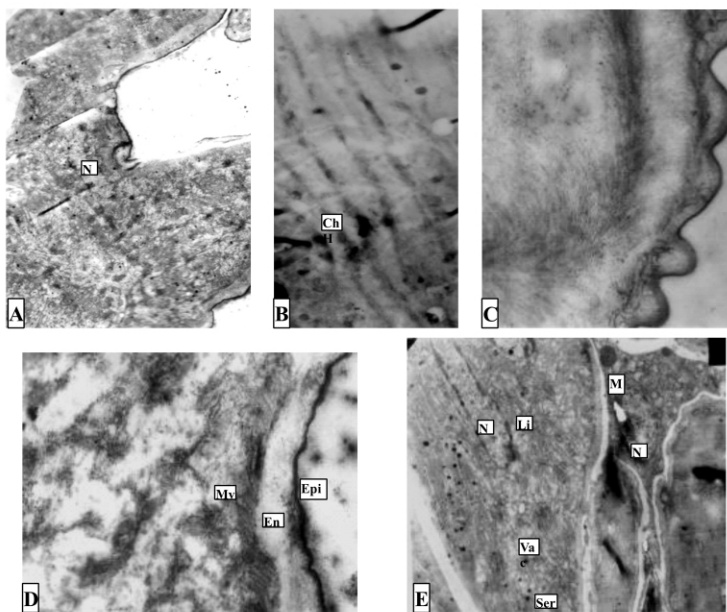
图4 分泌腺体表面(130×)

Fig.4 Surface of sex-pheromone-producing gland



图5 分泌腺体表面(2 000×)

Fig.5 Surface of sex-pheromone-producing gland



A. 腺体细胞(2 400×); B. 腺体表皮(17 000×); C. 腺体表皮(33 000×); D. 腺体细胞(17 000×) E. 腺体细胞(6 100×)。

N. 细胞核; Epi. 外表皮; En. 内表皮; Ch. 几丁质; Ser. 光面内质网; Li. 脂质粒; Mv. 微绒毛; M. 线粒体; Va. 液泡。

A. Glandular cell (2 400×); B. Glandular cuticula (17 000×); C. Glandular cuticula (33 000×); D. Glandular cell (17 000×) E. Glandular cell (6 100×). N. Nuclear; Epi. Epicuticle; En. Endocuticle; Ch. Chitin; Ser. Smooth endoplasmic reticulum; Li. Lipid granule; Mv. Microvilli; M. Mitochondrion; Va. Vacuole.

图6 绵山天幕毛虫分泌腺透射电镜

Fig.6 Transmission electron microscopy of sex-pheromone-producing gland

3 讨论

绵山天幕毛虫性信息素分泌腺位于腹部末端8~9间节间膜上,由第八第九间的节间膜特化而成,是一个环状结构。类似的结构也出现在与它同科同属的森林天幕毛虫(*Malacosoma disstria*)^[14]

中。性信息素分泌腺的腺体细胞呈柱状,在细胞质内有丰富的光面内质网,粗面内质网数量较少,内质网间分布着大小不等的脂肪粒。细胞质内还有线粒体、溶酶体、液泡等细胞器。Percy^[15]和Miller^[16]研究了东纵卷蛾和红带卷蛾的性信息素分泌腺的超微结构,2种昆虫分泌腺的超微结构显示,在蛹期粗面

内质网占优势,羽化时出现光面内质网,此时可提取到性信息素;随着蛾龄的增长,光面内质网逐渐增多,脂肪粒和液泡的数量增多,性信息素含量也随之增大。说明性信息素的含量和蛹、蛾龄及性信息素分泌腺的超微结构有一定的关系。在绵山天幕毛虫的腺体细胞中有丰富的光面内质网和许多脂质粒和液泡,这些细胞器可能正是绵山天幕毛虫合成性信息素的场所、原料以及粗产物。关于细胞内组织器和性信息素分泌的关系还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 中国科学院动物研究所. 中国蛾类图鉴 IV [M]. 北京: 科学出版社, 1983: 36.
- [2] 李连锁, 邵风海, 赵志平. 绵山天幕毛虫生物学习性及其防治技术 [J]. 河北林业科技, 2005(5): 52.
- [3] 李冬梅, 李捷, 李连昌. 梨星毛虫性信息素的研究 III——性信息素分泌腺体形态结构的观察 [J]. 华北农学报, 1997, 12(1): 112–116.
- [4] 李红军, 何雄奎, 曾爱军. 瘦蚊性信息素的研究进展 [J]. 华北农学报, 2008, 23(增刊): 278–281.
- [5] Kukovinets O S, Kasradze V G, Salimova E V *et al.* Insect pheromones and their analogs LIX. A new method for the synthesis of components of the sex pheromones of insects of the genus *Malacosoma* [J]. Chemistry of Natural Compounds, 1999, 35(3): 358–360.
- [6] 李咏玲, 韩福生, 张金桐. 昆虫性信息素研究综述 [J]. 山西农业科学, 2010, 38(6): 51–54.
- [7] 张金桐, 孟宪佐. 小木蠹蛾性信息素分泌腺的超微结构观察 [J]. 电子显微学报, 2000, 19(3): 321–322.
- [8] 郝兴宇, 侯艳平, 张金桐, 等. 核桃举肢蛾性腺的扫描电镜观察 [J]. 电子显微学报, 2004, 23(4): 357–357.
- [9] 张善干, 张玉华, 任世珍, 等. 棉铃虫性外激素分泌腺的研究 [J]. 昆虫学报, 1995, 38(2): 184–189.
- [10] 李咏玲, 曹天文, 王瑞, 等. 绵山天幕毛虫性信息素通讯系统扫描电镜观察 [J]. 山西农业大学学报, 2008, 28(4): 339–441.
- [11] 周弘春, 杜家纬. 风洞技术在昆虫化学通讯研究中的应用 [J]. 昆虫知识, 2001, 38(4): 267–272.
- [12] 李冬梅, 师光录, 李捷, 等. 梨星毛虫性信息素研究: 性信息素分泌部位的测定 [J]. 山西农业科学, 1996, 24(4): 24–30.
- [13] Li Y L, Cao T W, Wang R *et al.* Calling and Mating Behavior of *Malacosoma rectifascia* Lajonquère [J]. Agricultural Science & Technology, 2010, 1: 69–72.
- [14] Percy J E, Weatherston J W. Study of physiologically active arthropod secretions. IX. Morphology and histology of the pheromone-producing glands of some female Lepidoptera [J]. Can Ent, 1971, 103(12): 1733–1739.
- [15] Percy J E. Ultrastructure of sex-pheromone gland cells and cuticle before and during release of pheromone in female eastern spruce budworm *Choridstoneura fumiferana* (Tortricidae) [J]. Can J Zool, 1974, 52: 695–705.
- [16] Miller J R, Roelofs W L. Sex pheromone titer correlated with pheromone gland development and age in the red-banded leafroller moth *Argyrotaenia velutinana* [J]. Ann Entomol Soc Am, 1977, 70: 136–139.