柚木野螟幼虫头部形态及化学感受器扫描电镜观察

蓝来娇1, 黄夏宁1, 马涛1, 王胜坤2, 胡可炎1, 温秀军1*

(1. 华南农业大学林学与风景园林学院,广州 510642; 2. 中国林业科学研究院热带林业研究所,广州 510520)

摘要 使用扫描电镜技术系统观察并描述了柚木野螟 Eutectona machaeralis Walker 幼虫触角及其口器上的化学感受器。观察结果如下:柚木野螟幼虫的头式为下口式,咀嚼式口器,头上有触角、单眼、感觉刚毛、上唇、下唇、上颚、下颚、下颚须、下唇须、吐丝器等。幼虫头部下方有1对触角,触角上有6种感受器,分别是毛形感器、短毛感器、锥形感器、刺形感器、栓锥感器和小锥形感器。口器附肢下颚须上有栓锥感器,下唇须上有刺形感器。在吐丝器前方有1对锥形感器。

关键词 柚木野螟; 幼虫; 头部; 扫描电镜; 化学感受器

中图分类号: Q 964 文献标识码: A **DOI**: 10.16688/j.zwbh.2019015

Observation on the head and chemoreceptors of *Eutectona machaeralis* larvae by using a scanning electron microscope

LAN Laijiao¹, HUANG Xianing¹, MA Tao¹, WANG Shengkun², HU Keyan¹, WEN Xiujun¹*

(1. College of Forestry and Landscape Architecture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2. Research Institute of Tropical Forestry of CAF, Guangzhou 510520, China)

Abstract In this study, the scanning electron microscopy (SEM) was used to observe and describe the chemoreceptors on the antennae and mouthparts of *Eutectona machaeralis* Walker larvae. The observation results were as followed: 1) The head structure type of the larvae was hypognathous. 2) There were a pair of antennae on the head of the larvae and six kinds of chemoreceptors on the antennae, namely sensillum trichodea, short sensillum trichodea, sensillum basiconica, sensillum styloconica, sensillum chaeticum and small sensillum basiconica. 3) Three sensilla styloconica were observed on the maxilla and maxillary palpus; one sensillum chaeticum was found on labial palpus, and one sensillum chaeticum was found on the front of each side of fusula.

Key words Eutectona machaeralis; larva; head; scanning electron microscopy; chemoreceptor

昆虫的化学感受器是昆虫与外界环境进行化学通讯的基本单位,其在昆虫的许多行为上发挥了重要作用,如躲避天敌、搜寻和识别寄主、求偶、交配、产卵、取食等[1-4],因此,对昆虫化学感受器的类型、功能以及机制的探讨成为了昆虫化学生态学领域的一个研究重点[5]。目前已发表的研究中,对鳞翅目昆虫成虫触角的化学感受器研究较多[6],如苹果蠹蛾 Cydia pomonella (L.)[7]、小菜蛾 Plutella xylostella Linnaeus[8]、香梨优斑螟 Euzophera pyriella Yang[9]、豇豆荚螟 Maruca vitrata Fabricius[10]等,对幼虫的化学感受器研究相对较少。幼虫的化学感受器主要集中在幼虫头部的触角和口器上,具有寄主定位和取食选择等功能[11-13]。因此,明确幼

虫头部化学感受器的种类、分布、特征以及功能,不仅 有助于我们深入研究昆虫的取食行为机制,也可以为 探索害虫综合防治的新途径提供一些相应的参考。

柚木野螟 Eutectona machaeralis Walker 属鳞翅目 Lepidoptera 草螟科 Crambidae,是对珍贵树种柚木 Tectona grandis 造成严重危害的一种主要食叶害虫^[14-15],具有发生量大、世代多、为害期长等特点,且柚木野螟暴发时正值柚木的生长季节,一片叶子上可以有多头幼虫为害,严重时可将整张叶片吃光而仅剩下叶脉^[16-17],严重威胁柚木人工林的生长、培育和经营^[18-19]。当前,国内外对于柚木野螟的研究主要集中在两个方面,一个是发生动态的监测,另外一个是防治方法的探讨^[20-21],尚未见对其幼虫的

收稿日期: 2019-01-08 **修订日期:** 2019-07-31

基金项目: 广东省林业科技创新项目(2017KJCX045);广东省自然科学基金(2017A030313203);广东省大学生创新创业训练计划项目(201810564141)

* 通信作者 E-mail:wenxiujun@scau.edu.cn

头部感器超微结构进行观察的报道。本研究利用扫描电镜(scanning electron microscope, SEM)对柚木野螟幼虫头部进行了观察,旨在了解柚木野螟幼虫头部的整体形态结构、各个化学感受器的形态、分布以及数量,从而进一步探讨柚木野螟幼虫头部各个化学感受器的功能,以及它们相应的感受机制,也为研究柚木野螟的可持续控制方法提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

2018 年 8 月上旬,在广东省惠州市龙源兴茂生态园的柚木林中,采集带有柚木野螟幼虫的叶片带回实验室内,对叶片进行简单的修剪处理后,装入保湿性能良好的塑料箱内(60 cm×60 cm×70 cm),在温度为(26±1)℃,室内光暗周期为 L//D=14 h//10 h,光期为 06:00 − 20:00,相对湿度为 75% ~80%的实验室内饲养。每天晚上定期查看箱体内部情况,及时补充新鲜叶片并清理虫粪。

1.2 样品的制备及扫描

从实验室内饲养的 5 龄健康柚木野螟幼虫中,随机选取其中 10 头,将它们置于直径 9 cm 的培养皿中,在一20 \mathbb{C} 的冰箱内冷冻 5 \sim 10 min,以使幼虫昏迷,然后取出,在光学显微镜下用手术剪迅速剪下其

头部,用滤纸吸干头部边缘渗出的淋巴液后再将它们分别单个浸入70%的乙醇溶液,在超声波下清洗15 s以除去表面黏附物,接着依次用60%、70%、80%、90%和100%的乙醇溶液进行梯度脱水。在室温下自然干燥后,将幼虫头部的各个面分别粘于样品台上,然后放入自动精细离子溅射仪(JFC-1600)内喷金2次,每次1 min,喷金后在扫描电镜(JEOL,JSM-6510)下观察幼虫头部化学感觉器的类型和分布情况,并拍照。

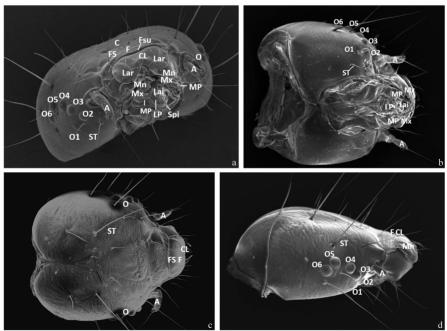
1.3 幼虫头部和化学感受器形态描述及鉴定

通过参考之前的研究结果,对柚木野螟的幼虫 头部形态和化学感受器进行鉴别以及命名^[7-10,13]。

2 结果与分析

2.1 柚木野螟幼虫头部形态

柚木野螟幼虫头部整体呈椭圆形,上有一蜕裂线呈倒"Y"形(图 1c),具有十分明显的额唇基沟(Fsu)、6 对"C"字形排列的侧单眼(O1~O6)及一些长短不一的刚毛(ST)。柚木野螟幼虫头式为下口式,口器为咀嚼式,其他结构包括上唇(Lar)、下唇(Lai)、上颚(Mn)、下颚(Mx)、下唇须(LP)、下颚须(MP)以及吐丝器(Spi)等(图 1a)。此外,可以看到柚木野螟幼虫的触角及口器上均分布着一定不同类型和数量的化学感受器。



a: 头部前面图(45×); b: 头部腹面图(40×); c: 头部背面图(37×); d: 头部侧面图(45×); A: 触角; C: 冠缝; F: 额; FS: 额缝; Fsu: 额唇基沟; CL: 唇基; Lar: 上唇; Mn: 上颚; Mx: 下颚; Lai: 下唇: LP: 下唇须; MP: 下颚须; O(01~O6): 单眼; Spi: 吐丝器; ST: 刚毛 a: Front view of the head (45×); b: Ventral view of the head (40×); c: Dorsal view of the head (37×); d: Lateral view of the head (45×); A: Antenna; C: Coronal suture; F: Frons; FS: Frontal suture; Fsu: Frontoclypeal sulcus; CL: Clypeus; Lar: Labrum; Mn: Mandible; Mx: Maxilla; Lai: Labium; LP: Labial palpus; Mp: Maxillary palpus; O(01-O6): Ocellus; Spi: Spinneret; ST: Setae

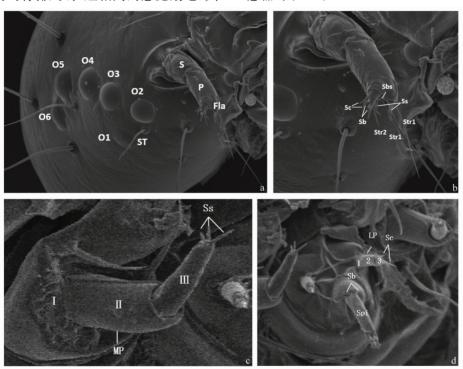
图 1 柚木野螟幼虫头部形态

Fig. 1 Larval head of Eutectona machaeralis

2.2 柚木野螟幼虫触角和口器形态及其化学感 受器

柚木野螟幼虫的1对触角着生于头部侧下方的上颚与单眼之间的位置,整体较粗短,可以分为柄节(S)、梗节(P)和鞭节(Fla)3个部位(图 2a)。在鞭节端部的内外两侧分别有1个短毛感器(Str2)和2个毛形感器(Str1),且呈三角形排列。端节底面有2个锥形感器(Sb)、2个刺形感器(Sc)、2个栓锥感器(Ss)和1个小锥形感器(Sbs)(图 2b)。

柚木野螟幼虫的上唇位于其口器的前方,基部 与唇基相连,其外壁骨化,内壁呈膜质状态。上唇上 一共着生有5对对称排列、长短相间的感觉刚毛,其 中有2对位于缺刻的上方,另外3对则沿上唇外沿分布(图1a)。柚木野螟幼虫头部还有1对位于上唇后方、非常坚硬的锥状上颚(图1a),其下颚则由外颚叶、内颚叶、下颚须、轴节、茎节等部分组成,其中下颚须又可分为3节(I、II、II),且端部分布有3个栓锥感器(图2c)。柚木野螟幼虫的下唇包括前颊和后颊,前颊两边的先端分布有下唇须,其主要功能是帮助下颚须感触和辅助取食,其第2、3节上分别着生有1个刺形感器(Sc)(图2d)。在头部的腹面可见幼虫的下颚、下唇、下颚须、吐丝器、下唇须等。在吐丝器的端部可见到吐丝孔,前方还有1对锥形感器(图2d)。



a: 触角及呈"C"字排列的6个侧单眼(120×); b: 触角上的感器(150×); c: 口器下颚须上的感器(150×); d: 下唇须和吐丝器上的感器(120×); S: 柄节; P: 梗节; Fla: 鞭节; Str 1: 毛形感器; Str2: 短毛感器; Ss: 栓锥感器; Sbs: 小锥形感器; Sb: 锥形感器; Sc: 刺形感器 a: Distribution of antennae and lateral ocelli (120×); b: The sensilla on the antenna (150×); c: The sensilla on the maxillary palpus (150×); d: The sensilla on the labial palpus and spinneret (120×); S: Scape; P: Pedicel; Fla: Flagellum; Str 1: Sensilla trichodea 1; Str 2: Sensilla trichodea 2; Ss: Sensillum styloconicum; Sbs: Small sensillum basiconica; Sb: Sensillum basiconica; Sc: Sensillum chaeticum

图 2 柚木野螟幼虫头部化学感受器

Fig. 2 The chemoreceptors of the larval head of Eutectona machaeralis

3 讨论

鳞翅目昆虫的幼虫主要通过头部的化学感受器来进行寄主植物的定位和选择,然后表现出取食行为,所以研究幼虫头部化学感受器的形态、种类、数量和分布等,有助于了解昆虫的食性机理,对探讨害虫防治办法也具有重要意义^[22]。许多研究表明,大部分昆虫幼虫主要通过其触角、下颚须和下唇须上分布的各种化学感受器来感受化合物,这些感受器

与昆虫的取食活动联系紧密^[23]。通过利用扫描电镜技术,本研究对柚木野螟的老熟幼虫头部的整体形态特征进行了描述,对分布于头部的触角以及口器附肢下颚须和下唇须上的化学感受器的种类、数量和相应分布的部位进行了细致的观察。经过观察发现,柚木野螟的幼虫头部形态与其他鳞翅目昆虫幼虫的头部形态基本相似^[7,10,24-25],均呈椭圆形,口器为下口式,咀嚼式口器,头部可见触角、蜕裂线、单眼、刚毛、唇基、额、上唇、上颚、下颚、下颚须、下唇、下

唇须及吐丝器等结构。在幼虫触角上则分布有毛形感器、短毛感器、锥形感器、栓锥感器、刺形感器和小锥形感器等。口器附肢下颚须和下唇须分别着生有栓锥感器和刺形感器,吐丝器的前方还有锥形感器。

鳞翅目幼虫的化学感受器主要是位于触角和口 器附肢上的接触感受器(机械感受器和味觉感受 器)[26],并且不仅不同的感受器行使的功能有异,就 连同一感受器也可能具有不同的功能。柚木野螟幼 虫每根触角分别具有1个短毛感器、2个毛形感器、 2个锥形感器、2个刺形感器、2个栓锥感器和1个 小锥形感器,而根据前人的研究结果,昆虫的毛形感 器主要功能是感受寄主植物气味[27],刺形感器的功 能主要是感受物理机械刺激[28],锥形感器则主要是 感受味觉、嗅觉及 CO2 刺激等[29],由此可推测柚木 野螟幼虫触角的主要功能是感受嗅觉。柚木野螟幼 虫的咀嚼式口器具有发达的附肢, 且附肢上分布着 种类和数量丰富的感受器。已有研究表明,昆虫下 颚须上的栓锥感器由5个双极的神经细胞所控制, 其中4个是化学感觉细胞,1个为机械感觉细胞[30], 具有机械和味觉作用,有助于幼虫判别寄主和选取 食物。作为单食性昆虫,柚木野螟幼虫头部不同的 感受器组合有利于其在取食选择过程中准确定位和 识别寄主。

本研究描述了柚木野螟幼虫头部的形态结构和上面分布的化学感受器的分布、类型、数量等,并在前人研究的基础上推测了各类感受器的功能和作用。但下一步仍需通过电生理学方法,借助单细胞反应(single cell recording, SCR)或触角电位(electroantennogram, EAG)等技术进一步验证这些感受器的实际生理功能及在寄主选择与取食为害过程中的作用。

参考文献

- [1] 陈冬宇,张玉静,秦小芳,等. 绿翅绢野螟幼虫头部感器超微结构观察[J]. 植物保护,2018,44(3):98-104.
- [2] 杨慧,严善春,彭璐. 鳞翅目昆虫化学感受器及其感受机理新进展[J]. 昆虫学报,2008,51(2);204-215.
- [3] STADLER E. Behavioral responses of insects to plant secondary compounds [C] // ROSENTHAL G A, BERENBAUM M R. Herbivores: their interacting with secondary plant metabolites Vol 2: 2nd ed. New York: Academic Press, 1992: 45 88.
- [4] LOON J J A. Chemosensory basis of feeding and oviposition behaviour in herbivorous insects: a glance at the periphery [J]. Entomologia Experimentalis et Applicata, 2015, 80(1): 7-13.
- [5] 娄永根,程家安. 昆虫的化学感觉机理[J]. 生态学杂志,2001,

- 20(2):66 69.
- [6] 那杰,于维熙,李玉萍,等. 昆虫触角感器的种类及其生理生态学意义[J]. 沈阳师范大学学报(自然科学版),2008,26(2):213-216.
- [7] 支海美,刘星月,杨定. 苹果蠹蛾头部感器的电镜扫描结构 [J]. 应用昆虫学报,2012,49(1):43-48.
- [8] 魏辉,杨广,王前梁,等. 小菜蛾幼虫头部化学感觉器电镜扫描观察[J]. 福建农业大学学报,2003,32(4):434-437.
- [9] 马涛,朱雪姣,张蒙,等. 库尔勒香梨优斑螟触角感受器超微结构观察[J]. 林业科学研究,2013,26(3):274-280.
- [10] 王攀,郑霞林,雷朝亮,等. 豇豆荚螟幼虫头部形态及化学感受器观察[J]. 植物保护,2011,37(2):72-75.
- [11] FAUCHEUX M J. Sensilla on the larval antennae and mouthparts of the European sunflower moth, *Homoeosoma nebulella*, Den. and Schiff. (Lepidoptera: Pyralidae) [J]. International Journal of Insect Morphology & Embryology, 1995, 24(4): 391-403.
- [12] DEY S, SINGH S, CHAKRABORTY R. Surface ultrastructure of larval mouthpart sensilla of the muga silkmoth, Antheraea assamensis, an endemic species of North-East India [J]. Microscopy Research & Technique, 2015, 74(3): 292-300.
- [13] 马涛,孙朝辉,李奕震,等. 麻楝蛀斑螟幼虫头部及化学感受器 结构观察[J]. 北方园艺,2013(24):119-122.
- [14] 吴士雄,陈芝卿,王铁华. 柚木野螟的初步研究[J]. 热带林业 科技,1977(S1);22-31.
- [15] 张维耀,王晓通,谢道同. 灭幼脲 3 号(虫敌)对柚木野螟药效试验初报[J]. 热带林业科技,1987(3):38-43.
- [16] 张蒙,刘志韬,温秀军. 柚木野螟雌雄蛹鉴定[J]. 广西林业科学,2014,43(2):200-203.
- [17] 张华轩. 利用青虫菌防治柚木野螟的初步研究[J]. 热带林业科技,1980(1):19-23.
- [18] 顾茂彬. 关于柚木野螟防治问题的商権[J]. 昆虫学报,1982, 25(1):8.
- [19] MA Tao, ZHANG Yuanyuan, WANG Shengkun, et al. Reproductive behavior and sex pheromone production in *Eutectona machaeralis* (Lepidoptera: Crambidae) [J]. Florida Entomologist, 2018, 101(2): 189 194.
- [20] NAIR K S S. The teak defoliator in Kerala, India [M]//Dynamics of Forest Insect Populations. Springer US, 1988: 267 289.
- [21] NARENDRAN T C. Parasitic Hymenoptera and biological control [M]//Biocontrol potential and its exploitation in sustainable agriculture. Springer US, 2001: 1-12.
- [22] 向玉勇,徐莉,杨茂发,等. 金银花尺蠖幼虫头部化学感受器扫描电镜观察[J]. 植物保护学报,2016,43(2):288-292.
- [23] 李建勋,王进军,邓威,等. 甜菜夜蛾幼虫触角及口器上感器形态描述(鳞翅目,夜蛾科)[J]. 动物分类学报,2008,33(3):443-448.
- [24] 钟海英,张珏锋,李芳,等. 二化螟水稻、茭白种群幼虫口器和触角及其感器扫描电镜观察[J]. 中国水稻科学,2017,31(2): 195-206.
- [25] 刘俊延,黄宗优,张玉静,等. 朱红毛斑蛾幼虫头部感受器扫描电镜观察[J]. 植物保护学报,2018,45(6):132-138.

(下转 184 页)

准确鉴定。随着分子生物学技术的发展,基于 DNA 差异和 PCR 技术的分子生物学鉴定方法目前已经 成为植物线虫新种鉴定与揭示种间差异的重要手 段[22]。ITS 是核糖体 DNA 中内转录间隔区,拷贝 数多,同时包含保守和变异序列,并且受外界环境因 素的影响较小,具有种内高度保守而种间具有不同 程度变异的特点,是植物线虫 PCR 分类鉴定中广泛 应用的理想遗传靶标。采用 PCR 方法对根结线虫 某段具有种特异性的 DNA 进行序列分析,能快速 准确地鉴定根结线虫种类。本研究建立了番禺根结 线虫 ITS 区特异性 PCR 快速检测技术体系,采用了 线虫 rDNA 的内转录间隔区序列设计引物,能够高 效地从多种根结线虫中特异性扩增出番禺根结线虫 ITS 区序列片段。该特异性 PCR 检测技术与传统 的形态学或同工酶电泳技术方法相比,具有操作简 单、特异性强以及灵敏度高的特点,其灵敏度甚至达 到了 0.1 条 J_2 ,完全实现了单条番禺根结线虫特异 性快速检测。该方法的建立有效弥补了传统鉴定方 法的不足与缺陷,为柑橘根结线虫病的检测及防治 预警提供有效的技术支撑。

参考文献

- [1] MANTELIN S, BELLAFIORE, S, KYNDT T. Meloidogyne graminicola: a major threat to rice agriculture [J]. Molecular Plant Pathology, 2017, 18(1): 3-15.
- [2] HUNT D J, HANDOO Z A, PERRY R N, et al. Taxonomy, identification and principal species [J]. Root-Knot Nematodes, 2010: 55 97.
- [3] HU Maoxiu, ZHUO Kan, LIAO Jinling. Multiplex PCR for the simultaneous identification and detection of *Meloidogyne incognita*, *M. enterolobii*, and *M. javanica* using DNA extracted directly from individual galls [J]. Phytopathology, 2011, 101(11); 1270 1277.
- [4] 高小倩. 福建省柑橘线虫病害的诊断与防治[D]. 福州:福建农林大学,2012.
- [5] 吴尧. 福建省柑橘根部 1 种根结线虫新种的鉴定[D]. 福州:

- 福建农林大学,2011.
- [6] 宋志强,成飞雪,程菊娥,等. 湖南省永州地区柑橘慢衰病与 黄龙病病原鉴定及分布调查植物保护[J]. 植物保护,2016,42(4):189-193.
- [7] 廖月华,邓舒平. 柑桔根结线虫病研究初报[J]. 江西农业大学学报,1990(2):5-9.
- [8] 刘维志. 植物病原线虫学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [9] 张绍升,许猛义. 福建柑桔根结线虫种类及其防治研究[J]. 中国柑桔,1994(1):9-11.
- [10] 杨宝君,陈荟. 寄生在柑桔根上的根结线虫新种—简阳根结线虫[17]. 植物病理学报,1990(4): 259-264.
- [11] 朱伟生,陈荟,兰晓瑜,等. 四川柑桔园线虫种类调查初报 [J]. 中国南方果树,1991(4):14-15.
- [12] 周志军. 柑桔根结线虫病在湖南衡东严重发生[J]. 植物保护, 1991, 17(5): 17.
- [13] 方中达. 植病研究方法[M]. 第 3 版. 北京:中国农业出版社,1998.
- [14] 冯志新. 植物线虫学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001.
- [15] 张靠稳, 贾振华. 根结线虫会阴花纹的染色方法[J]. 北方园 艺, 2008(3): 207-208.
- [16] VRAIN T, WAKARCHUK D, LAPLANTELEVESQUE A, et al. Intraspecific rDNA restriction fragment length polymorphisms in the *Xiphinema americanum* group [J]. Fundamental & Applied Nematology, 1992, 15(6): 563 573.
- [17] SONG Zhiqiang, CHENG Jue, CHENG Feixue, et al. Development and evaluation of loop-mediated isothermal amplification assay for rapid detection of *Tylenchulus semipenetrans* using DNA extracted from soil [J]. The Plant Pathology Journal, 2017, 33(2): 184 192.
- [18] 萨姆布鲁克 J, 拉塞尔 D W. 分子克隆实验指南[M]. 黄培堂, 译. 北京: 化学工业出版社, 2008.
- [19] LIAO Jinling, YANG Weicai, FENG Zhixin, et al. Description of *Meloidogyne panyuensis* sp. n. (Nematoda: Meloidogynidae), parasitic on the peanut, *Arachis hypogaea* L. in China [J]. Russian Journal of Nematology, 2003, 13(2): 107-114.
- [20] 芮凯, 陈绵才, 郭安平, 等. 海南省番石榴病原根结线虫种类鉴定[J]. 华南农业大学学报, 2005, 26(4): 53-58.
- [21] 万新龙,李建洪,彭德良. 根结线虫 rDNA-ITS 片段的克隆与序列分析[J]. 华中农业大学学报,2007,26(5):624-628.
- [22] 廖金铃. 根结线虫的鉴定及其 DNA 多态性研究[D]. 广州:华南农业大学,2001.

(责任编辑:田 喆)

(上接 178 页)

- [26] 谢建军,钟国华,陈新芳,等. 亚洲玉米螟 Ostrinia furnacalis (Guenée)幼虫化学感受器种类与分布的形态学研究[J]. 电子显微学报,2006,2(1):71-75.
- [27] 向玉勇,孔丹丹,刘同先,等. 小地老虎雌蛾触角及幼虫头部感 受器扫描电镜观察[J]. 昆虫学报,2016,59(12):1340-1347.
- [28] 马瑞燕,杜家纬. 昆虫的触角感器[J]. 应用昆虫学报,2000,37 (3):179-183.
- (3):179 183. [29] BARSAGADE D D, KHURAD A M, CHAMAT M V. Micro-
- scopic structure of mouth parts sensilla in the fifth instar larvae of eri silkworm, *Philosamia ricini* (Lepidoptera: Saturniidae) [J]. Journal of Entomology and Zoology Studies, 2013, 1(3): 15 21.
- [30] CLARK J V. Feeding deterrent receptors in the last instar African armyworm *Spodoptera exempta*: a study using salicin and caffeine [J]. Entomologia Experimentalis et Applicate, 1981, 29(2): 189 197.

(责任编辑:田 喆)