

中黑盲蝽胚胎发育的显微及切片观察

田彩红¹, 封洪强^{1*}, 王 瑛¹, 许 鹏^{1,2}, 李国平¹,
黄建荣¹, 封洪云¹, 尹新明²

(1. 河南省农作物病虫害防治重点实验室, 农业部华北南部作物有害生物综合治理重点实验室, 河南省作物保护国际联合实验室, 河南省生物农药工程研究中心, 河南省农业科学院植物保护研究所, 郑州 450002; 2. 河南农业大学植物保护学院, 郑州 450002)

摘要 以滞育卵越冬是中黑盲蝽生活史的重要组成部分,为明确滞育卵胚胎发育的停滞时期,对中黑盲蝽的胚胎发育过程进行了显微观察,并将胚胎发育停滞期的滞育卵做了石蜡切片。温度(26±1)℃,相对湿度70%±10%,光周期L//D=14 h//10 h条件下,滞育卵在产卵后48 h停止发育,而非滞育卵则继续发育,在产卵后第9天孵出若虫。通过测定中黑盲蝽胚胎发育不同时期的卵重发现,非滞育卵随着胚胎发育卵重持续增加,滞育卵在发育48 h后卵重不再增加。

关键词 中黑盲蝽; 胚胎发育; 滞育卵; 石蜡切片; 卵重

中图分类号: S 433 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn.0529-1542.2017.01.032

Morphological observation of embryonic development of *Adelphocoris suturalis* by microscope and paraffin section

Tian Caihong¹, Feng Hongqiang¹, Wang Ying¹, Xu Peng^{1,2}, Li Guoping¹,
Huang Jianrong¹, Feng Hongyun¹, Yin Xinming²

(1. Henan Key Laboratory of Crop Pest Control, Key Laboratory of Crop Integrated Pest Management (IPM) in Southern Part of Northern China, Ministry of Agriculture, International Joint Research Laboratory for Crop Protection of Henan, Biological Pesticides Engineering Research Center of Henan Province, Institute of Plant Protection, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China;
2. College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract *Adelphocoris suturalis* overwinters with diapause eggs laid in the stems of cotton, tissue of weed, fruit trees and alfalfa hosts adjacent to the cotton fields, which is the most critical link of its life history. To identify the period of the embryo development stagnation in diapause eggs, we performed a morphological observation using microscope and paraffin section. Eggs, nymphs and adults were reared on green beans at (26±1)℃, 70%±10% relative humidity, and a photoperiod cycle of 14 h light/10 h dark. The embryo stopped growing within 48 hours after oviposition in diapause eggs. While in the non-diapause eggs, the embryo kept developing with cells differentiation, 9 days after oviposition, the nymphs were hatched. The weight of non-diapause eggs continued to increase with the development of embryo. However, the weight of diapause eggs maintained stability after the formation of diapause.

Key words *Adelphocoris suturalis*; embryo development; diapause eggs; paraffin section; weight of eggs

中黑盲蝽 *Adelphocoris suturalis* Jakovlev(半翅目,盲蝽科)是Bt棉上重要的非靶标害虫,主要分布在长江流域和黄河流域。中黑盲蝽以滞育卵在棉

叶柄、果树等寄主植物及杂草和苜蓿茎秆等的组织内越冬,次年4月,越冬卵孵化,一代成虫于5月上、中旬羽化,并迁入邻近麦田等冬播作物补充营养,至

5 月底,以早播棉等作物为食。至 6 月中下旬,棉花现蕾、开花时开始为害棉花,并持续到 9 月中旬后^[1]。该虫主要以成、若虫刺吸为害子叶,造成棉苗顶芽焦枯;为害棉蕾,造成棉蕾脱落。越冬是中黑盲蝽生活史中关键环节之一,而滞育行为有效保证了中黑盲蝽抵御冬天不良环境的影响,使其能够维持个体生存和种群延续,而这个时期也是农业生产防治的关键时期。因此,研究中黑盲蝽胚胎发育及滞育卵发生停滞的关键时期,可为预测中黑盲蝽发生及防治越冬虫源提供科学依据。

本文通过对中黑盲蝽不同时期胚胎发育的显微观察和滞育卵的石蜡切片制作,及测定不同发育时期的卵重,明确了中黑盲蝽胚胎发育的阶段性和发育动态,以期及早春中黑盲蝽越冬卵解除滞育及滞育后的胚胎发育研究提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

中黑盲蝽的自然种群采自河南新乡原阳县河南现代农业研究开发基地(35°00'N, 113°42'E)苜蓿地,在室内温度(26±5)℃,湿度 80%±5%,光周期 L//D=16 h//8 h 条件下,以清洗干净的四季豆连续饲养建立非滞育种群^[2],滞育卵通过 17℃,光周期 L//D=8 h//16 h 诱导的方法获得^[3-4],不同发育时期卵的收集方法参考绿盲蝽 *Apolygus lucorum* 卵的收集方法^[5]。

1.2 中黑盲蝽胚胎发育不同时期特征观察

收集中黑盲蝽产在滤纸上发育第 0、1、2、3、4、5、6、7、8 天的卵,为减少取卵时对卵的损伤,将带有卵的滤纸浸在 PBS 缓冲液(pH=7.2~7.4)中 5 min,小心将卵拨出,用 Motic (moticampro)昆虫解剖显微镜初步观察并拍照,选择具有显著特征的非滞育卵和滞育卵^[6]制作石蜡切片。中黑盲蝽滞育卵和非滞育卵石蜡切片包埋及脱水,染色,脱色,封片等流程根据家蚕胚胎细胞卵的透射电镜方法改良而来^[7],切片方法参考绿盲蝽石蜡切片制作方法^[8]。

1.3 卵重测定

剪取含有中黑盲蝽刚产下的 100 粒左右卵的滤纸,用 Ohaus Discovery 专业型分析天平,每天在相

同时间称量卵重并补充等量的灭菌水保湿,直到若虫孵化出来。以上处理重复 3 次,利用 SPSS 19.0 进行方差分析和多重比较。

2 结果与分析

2.1 中黑盲蝽胚胎发育过程

在温度(26±1)℃,相对湿度 70%±10%,光周期 L//D=14 h//10 h 饲养条件下,中黑盲蝽从卵到幼虫要经过 9 d,初产卵透明,卵壳柔软,卵内容物清晰可见(图 1a),2~3 d 后,卵壳逐渐变硬,卵内容物色泽变深,第 3~4 天,卵壳出现细小的龟纹(图 1b~c),第 4 天,卵底部与中上部颜色深浅差异显著,对光可见胚胎原头,腹部分节可见(图 1d)。在胚胎发育的第 5 天,可见腹部节更加明显,卵中部稍变大,胚胎变长,卵壳颜色加深(图 1e)。进入第 6 天,卵壳颜色继续加深,近呼吸角部位红色复眼隐约可见(图 1f)。在第 7 天,卵壳颜色变翠绿,质地柔软,卵底部出现空隙,头胸分节十分明显,胚胎原型初步形成(图 1g)。胚胎发育进入第 8 天,胚胎与卵壳分离,头胸腹和附肢完全分化形成,胚胎原头与呼吸角相连处伸长分离(图 1h),进入第 9 天,若虫头部顶开卵盖孵出,初孵若虫通体柔软透明,口针、附肢和触角端部颜色深(图 1i)。

2.2 滞育卵与非滞育卵切片的对比观察

切片观察表明,中黑盲蝽卵产出后 48 h 进入滞育期。与正常发育的卵(图 2a)相比,中黑盲蝽滞育卵卵壳变厚,通透性变差(图 2b)。正常发育的中黑盲蝽卵细胞发育正常,胚层结构清晰,呼吸角完整(图 2c),而滞育卵的细胞等内容物与卵壳结构分离,形成空洞,细胞排列结构不规则(图 2d)。

2.3 中黑盲蝽胚胎发育过程中卵重的变化

中黑盲蝽滞育卵初产时百粒卵重(4.13±0.058)mg,非滞育卵在初产时百粒卵重(3.77±0.404)mg,二者无显著差异,随着胚胎的发育,二者卵重逐渐出现差异(图 3)。中黑盲蝽的非滞育卵在胚胎发育过程中卵重持续增加,而滞育卵的卵重开始逐渐增加,2 d 后卵重增加到初孵时的 1.5 倍多,然后卵重基本保持不变,且显著低于非滞育卵。

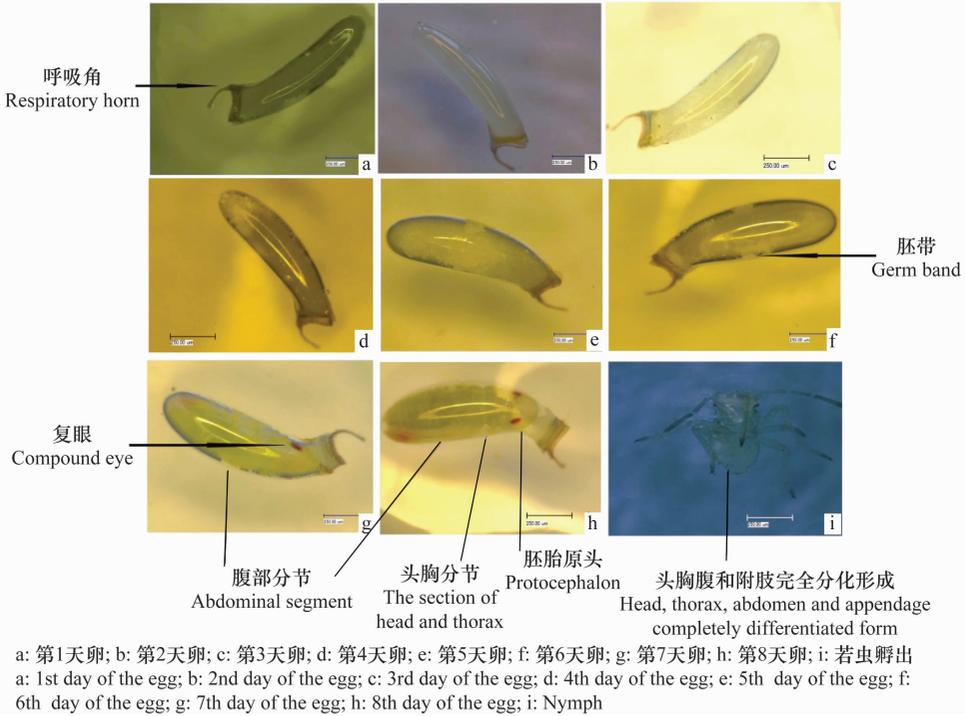


图 1 中黑盲蝽的胚胎发育过程

Fig. 1 Embryonic development of *Adelphocoris suturalis*

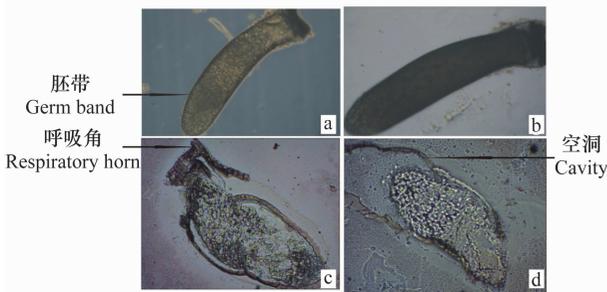


图 2 中黑盲蝽非滞育卵与滞育卵的显微和切片观察
Fig. 2 Morphological observation of embryonic development of *Adelphocoris suturalis* diapause and non-diapause egg using microscope and paraffin section

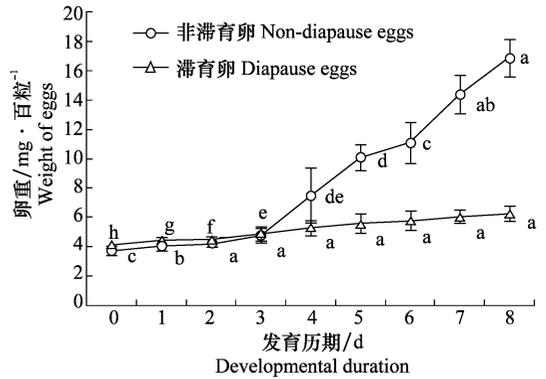


图 3 中黑盲蝽胚胎发育中卵重的变化

Fig. 3 Weight changes of diapause and non-diapause eggs during embryonic development

3 讨论

近些年来,对中黑盲蝽的生长发育的分子机理研究取得了长足的进步^[9-10],对中黑盲蝽进行胚胎发育研究是进一步深入研究中黑盲蝽滞育分子机理的前提。显微镜及石蜡切片只能观察到头躯分化、腹部分节、附肢形成及口器部分器官的形成。由于中黑盲蝽卵黄少,进行卵的剥壳处理难度较大,如需进一步了解胚胎的具体分化过程,将来需进一步进行不同胚胎发育阶段的透射电镜观察。

中黑盲蝽的胚胎体内经过复杂的生理生化变化,历经 9 d,孵出若虫。而滞育卵在产后 48 h 胚胎停止发育进入滞育期,并以此抵御不良环境条件并繁衍后代。目前研究发现,很多昆虫都以卵滞育的形式越冬,尽管都以滞育卵越冬,不同种的昆虫胚胎滞育发生阶段不同,舞毒蛾的卵滞育发生在胚胎发育的后期^[11],而绿盲蝽^[8]和家蚕则发生在初期^[12],稻蝗发生于胚胎发育的中期^[13-14]。澳大利亚科学家研究发现通过持续地让其亲代经历逐渐缩短的光照期,蝗虫卵即可以出现兼性滞育^[15],与我们的研究结果相似,中黑盲蝽的卵滞育发生于胚胎发育的中

早期,通过改变光周期可诱导中黑盲蝽的滞育。

以滞育卵越冬是盲蝽年生活史中最为关键的阶段之一,我们的目的是根据中黑盲蝽独特的生物学特性,从中寻找到生活史中的薄弱环节或特殊习性,为盲蝽早春虫源的监测预警与综合治理提供科学参考。中黑盲蝽胚胎发育的特征与绿盲蝽^[8]和蝗虫^[13-14]的卵相似,中黑盲蝽在发育过程中需要从外界吸收水分,因此在湿润的环境下卵才能孵化,而且在雨后几天,田间往往会出现若虫的小高峰,这与我们所测的卵重的结果是相吻合的。

参考文献

- [1] Pan Hongsheng, Lu Yanhui, Wyckhuys K A G, et al. Early-season host switching in *Adelphocoris* spp. (Hemiptera: Miridae) of differing host breadth [J]. PLoS ONE, 2013, 8(3): e59000.
- [2] Lu Yanhui, Qiu Feng, Feng Hongqiang, et al. Species composition and seasonal abundance of pestiferous plant bugs (Heteroptera: Miridae) on Bt cotton in China [J]. Crop Protection, 2008, 27: 465 - 472.
- [3] Feng Hongqiang, Chen Peiyu, Li Guoping, et al. Diapause induction in *Apolygus lucorum* and *Adelphocoris suturalis* (Hemiptera: Miridae) in northern China [J]. Environmental Entomology, 2012, 41(6): 1606 - 1611.
- [4] 陈培育, 封洪强, 李国平, 等. 中黑盲蝽自然种群滞育的变化规律[J]. 中国棉花, 2015, 42(7): 31 - 32.
- [5] Feng Hongqiang, Jin Yinli, Li Guoping, et al. Establishment of an artificial diet for successive rearing of *Apolygus lucorum* (Hemiptera: Miridae)[J]. Journal of Economic Entomology,

2012, 105(6): 1921 - 1928.

- [6] 陈培育, 封洪强, 李国平, 等. 中黑盲蝽滞育与非滞育卵的形态学观察[J]. 植物保护, 2010, 36(2): 80 - 82.
- [7] Tian Caihong, Zhao Jingfang, Xu Yipeng, et al. Involvement of *Bombyx mori* nucleopolyhedrovirus ORF41 (Bm41) in BV production and ODV envelopment [J]. Virology, 2009, 387(1): 184 - 192.
- [8] 田彩红, 何璠, 封洪强, 等. 绿盲蝽胚胎发育的显微及切片观察[J]. 植物保护, 2013, 39(1): 56 - 60.
- [9] Tian Caihong, Tay W T, Feng Hongqiang, et al. Characterization of *Adelphocoris suturalis* (Hemiptera: Miridae) transcriptome from different developmental stages [J]. Scientific Reports, 2015, 5: 11042.
- [10] Luo Jing, Liu Xiangyang, Liu Lang, et al. De novo analysis of the *Adelphocoris suturalis* Jakovlev metathoracic scent glands transcriptome and expression patterns of pheromone biosynthesis-related genes [J]. Gene, 2014, 551(2): 271 - 278.
- [11] 李扬. 舞毒蛾亚洲种卵滞育解除影响因素和代谢物质变化研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2014.
- [12] 王宗舜. 昆虫滞育与激素调节[J]. 昆虫知识, 1985, 22(4): 181 - 183.
- [13] 钦俊德, 翟启慧, 沙槎云, 等. 蝗卵的研究, I. 亚洲飞蝗蝗卵孵育期中胚胎形态变化的观察及野外蝗卵胚胎发育期的调查[J]. 昆虫学报, 1954, 4(4): 383 - 398.
- [14] 崔双双, 朱道弘. 中华稻蝗的胚胎发育及卵滞育发生的胚胎发育阶段[J]. 应用昆虫学报, 2011, 48(4): 845 - 853.
- [15] Deveson E D, Woodman J D. Embryonic diapause in the Australian plague locust relative to parental experience of cumulative photophase decline [J]. Journal of Insect Physiology, 2014, 70: 1 - 7.

(责任编辑: 杨明丽)

(上接 167 页)

本研究发现,棉平突蚜茧蜂(僵蚜)的发生动态与蚜虫的发生动态具有较强的跟随关系,但捕食性天敌昆虫的发生动态与蚜虫的发生动态差异大,没有明显跟随关系。这与棉平突蚜茧蜂高度专一性的寄生习性相关,捕食性天敌昆虫如瓢虫、草蛉由于捕食对象多、活动能力强,其发生与蚜虫的动态差异较大,这与其他地区瓢虫、草蛉与棉蚜的消长关系研究结论一致^[13]。

参考文献

- [1] 周淑荣, 包秀芳, 董昕瑜, 等. 黄秋葵的病虫害防治[J]. 特种经济动植物, 2015(1): 51 - 54.
- [2] 张广学, 钟铁森. 中国经济昆虫志第二十五册同翅目 蚜虫类(一)[M]. 北京: 科学出版社, 1983.
- [3] 吴铨, 李映萍, 姜典志. 南阳棉区棉虫的综合防治[J]. 昆虫学报, 1981, 24(1): 34 - 40.
- [4] 赵季秋, 朱淑范, 杨秀兰, 等. 利用当地天敌综合治理棉蚜的试验研究[J]. 植物保护学报, 1982, 9(2): 89 - 94.
- [5] 江苏省科委农业处, 江苏省农林厅植保处, 江苏省农科院植保所. 江苏省棉虫综合防治阶段总结[J]. 江苏农业科学, 1982

(4): 20 - 25.

- [6] Lajeunesse S E, Johnson G D. Developmental time and host selection by the aphid parasitoid *Aphelinus* sp. nr. *varipes* (Foerster) (Hymenoptera: Aphelinidae)[J]. The Canadian Entomologist, 1992, 124(4): 565 - 575.
- [7] 蓝江林, 贺福德. 棉蚜茧蜂 [*Lysiphlebia japonica* (Ashmead)] 对棉蚜不同虫态寄生选择的研究[J]. 植物保护, 2004, 30(6): 37 - 39.
- [8] Messing R H, Rabasse J M. Oviposition behavior of polyphagous aphid parasitoid *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Aphidiidae)[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 1995, 52(1): 13 - 17.
- [9] 盖英萍, 冀荣领, 刘玉升, 等. 异色瓢虫对中国梨木虱若虫的捕食作用[J]. 植物保护学报, 2001, 28(3): 285 - 286.
- [10] 雒珺瑜, 崔金杰, 王春义, 等. 棉田释放异色瓢虫对棉蚜自然种群的控制效果[J]. 中国棉花, 2014, 41(7): 8 - 10.
- [11] 戈峰, 丁岩钦. 龟纹瓢虫对棉蚜的捕食行为[J]. 昆虫学报, 1995, 38(4): 436 - 441.
- [12] 丁瑞丰, 朱晓华, 阿克旦·吾外士, 等. 人工释放普通草蛉田间防治棉蚜效果研究[J]. 植物保护, 2015, 41(2): 200 - 204.
- [13] 黄启明. 瓢虫、草蛉与棉蚜消长关系的调查[J]. 昆虫天敌, 1981, 3(3): 19 - 21.

(责任编辑: 杨明丽)