

蝗虫消化道形态结构研究的一种新方法^{*}

张小民 李晓玲 郭亚平 马恩波^{**}

(山西大学生命科学与技术学院 太原 030006)

A new method for studying structure of alimentary canal in grasshopper. ZHANG Xiao-Min, LI Xiao-Ling, GUO Ya-Ping, MA En-Bo^{**} (College of Life Science and Technology, Shanxi University, Taiyuan 030006, China)

Abstract A method of using a scanner together with the scanning electron microscope to study the tiny structure of walls of *Oxya chinensis* (Thunberg)'s alimentary canal was introduced. The results show that the picture of *O. chinensis*'s alimentary canal in its nature status can be obtained by tuming out the interior wall of alimentary canal (without staining) and then spreading and scanning it onto the glass plate of the scanner. The scanned sample was then used as the sample preparation of the scanning electron microscope. The tiny structure of *O. chinensis*'s alimentary canal could be positioned in the scanner's picture.

Key words *Oxya chinensis*, alimentary canal, teeth, morphology

摘 要 采用扫描仪和扫描电镜相结合的方法对中华稻蝗 *Oxya chinensis*(Thunberg) 消化道内部的超微结构进行定位研究。结果表明:直接将蝗虫消化道的内壁翻出(不染色)铺展于扫描仪的玻璃板上进行扫描,就能得到蝗虫消化道在自然状态下的完整图像,将扫描仪扫描后的样品用于扫描电子显微镜的样品制备,并对照上述研究结果,即可定位蝗虫消化道在扫描电子显微镜下的超微结构。为蝗虫消化道的形态学研究提供一个简便有效的方法,同时也为蝗虫消化道超微结构的定位研究提供新的手段。

关键词 中华稻蝗, 消化道, 齿, 形态学

对蝗虫消化道结构的研究是昆虫学研究中较为经典的工作之一,到 20 世纪 60 年代就已采用解剖学方法和光学显微镜观察手段基本搞清了蝗虫消化道的结构、功能和起源。对蝗虫消化道组织和细胞结构的研究具有代表性的国外学者有: Tietz^[1]、Nenyukov^[2]、Hodge^[3]、Chauvin^[4]、Atherton^[5]、Riedel^[6] 和 Albrecht^[7], 国内学者有刘玉素和卢宝廉^[8];对蝗虫胃盲囊和中肠上皮细胞进行过研究的有 Woodruff^[9];对马氏管及其相关的消化道进行过研究的有 Stuart^[10];Brown 对 *Melanoplus bivittatus* 的围食膜进行了研究^[11];Marshall 对 *Melanoplus femurrubrum* 的直肠做过研究^[12];对蝗虫前肠组织和细胞结构进行过研究的有 Judd^[13]、Bryantsev^[14] 和 Williams^[15]。但由于当时实验条件的限制,主要研究仅限于光学显微镜水平。20 世纪 60 年代以后,对蝗虫消化道深入系统的研究报道较少,主要侧重于研究蝗虫前肠的分类学价值,

由于蝗虫前肠的内壁有脊和齿,而脊和齿的形态可作为蝗虫的分子学指标,故研究的目的主要是观察脊和齿的形态特征。在这方面的研究具代表性的国外学者有 Muralirangan^[16], 国内学者有郑哲民^[17]、席碧侠^[18,19]。近年来我国一些学者利用电子显微镜对蝗虫消化道进行了研究,甘雅玲通过透射电子显微镜对蝗虫消化系统的超微结构进行了观察^[20];李晓玲等通过扫描电子显微镜对中华稻蝗前后肠内壁齿的细微结构^[21],以及 3 种蝗虫消化道贲门瓣的形态结构进行了观察^[22]。可见对消化道内壁结构的研究,国外仅见 Albrecht^[7] 和 Muralirangan^[16], 国内也仅有郑哲民^[17]、席碧侠^[18,19]、李晓玲^[21] 和张小民^[22] 等做过一些研究工作。

从前人对蝗虫消化道所做的大量工作中可

* 国家自然科学基金资助项目(30470219, 30570247)。

** 通讯作者, E-mail: maenbo2003@sxu. edu. cn

收稿日期: 2006-03-21, 修回日期: 2006-04-09, 再修回: 2006-05-09

以看到,其主要使用的方法有4类:(1)石蜡切片、光镜观察和照相。该方法为20世纪60年代以前研究蝗虫消化道的主要方法,使用该方法对蝗虫消化道的组织学和细胞学研究非常有效,但对蝗虫消化道内部结构的观察有一定的局限性,并不能全面了解蝗虫消化道内部结构。(2)按Albrecht的方法游离出前肠^[7],沿消化道的背中线剪开,用15%的氢氧化钾清洗和煮沸数分钟,再用亮绿染色后,经乙醇梯度脱水制成封片^[7],体视显微镜观察。(3)超薄切片,透射电镜观察和照相。该方法是在20世纪50年代以后随着超薄切片技术的完善,而真正用于细胞超微结构的研究,但不能用于消化道内表面细微结构的研究。(4)扫描电镜观察和照相。该方法是20世纪70年代以后随着电视机的完善而发展起来的,真正广泛应用于生物学研究是在20世纪70年代以后。该方法是观察生物表面显微结构最有效的方法之一。但由于受到扫描电镜样品室的限制,不可能将完整的蝗虫消化道放置于扫描电镜下观察,故观察的部位和面积受到限制。为准确定位扫描电子显微镜下所观察的部位,作者首次采用扫描仪对蝗虫消化道进行扫描,并将扫描后的样品直接用于扫描电子显微镜的样品制备,对照研究结果,可有效准确地定位扫描电子显微镜下蝗虫消化道内部的显微结构,旨在为蝗虫消化道的形态学研究提供一种简便有效的研究手段。

1 材料和方法

1.1 材料

所用材料为中华稻蝗成虫(雄),于2004年10月,2005年9月采集于山西省太原市晋源区。

1.2 方法

将野外采集的成虫标本任意取雄虫10只,XTL-II型照相体视显微镜下解剖,将消化道取出,剥离中后肠交界处的马氏管,0.2 mol/L磷酸盐缓冲液冲洗,测量消化道各部分的长度,然后在解剖镜下沿消化道腹面剪开,0.2 mol/L磷酸盐缓冲液洗去消化道内容物,将消化道内壁

翻出并铺展于玻璃板上,EPSON Perfection1200PHOTO彩色图像扫描仪扫描,取扫描仪扫描后的样品滴加5%戊二醛固定液,4℃下固定2 h,1%锇酸固定1 h,经乙醇梯度脱水,再经叔丁醇置换,LG-5真空冷冻干燥机干燥,ION Sputter JEC-1100溅射镀金,JSM-35CF扫描电镜观察、照相。

2 结果

扫描结果见封底彩插图版III。图1为蝗虫消化道扫描仪下的完整图像,图2,3,4,5为扫描仪扫描后的该蝗虫消化道内壁扫描电子显微镜图像。用于扫描电子电镜的蝗虫消化道样品制备的材料是扫描仪扫描后的同一个材料,故可以将扫描仪的图像(图1)用于扫描电子显微镜下蝗虫消化道细微结构的定位研究,对照图1,可定位扫描电子显微镜下图2,3,4,5的具体部位。

图2与图1相对照,可确定该部位为嗦囊(crop, Cr)的中部。对照2图可看到该部位的中线凸起形成的背凸(dorsal hump, Dh),两侧有脊(ridges),脊上有许多的齿沿脊的中线分布。

图3与图1相对照,确定该部位是前胃(proventriculus, Pr)的内壁。对照2图可看到前胃是由纵行脊(longitudinal ridges)并行排列而成,沿每列纵行脊有许多规则排列的凸起,在每个凸起的后端有1个齿,齿尖指向后方。

图4与图1相对照,确定该部位为幽门瓣(pyloric valve, Pv),位于中肠之后,后肠的最前端,由12个不规则橄榄球形结构并行排列而成,其前端为中肠,肠壁内侧有围食膜(peritrophic membrane, Pm)。

图5与图1相对照,可确定为直肠垫(rectal pad, Rp)的前端。对照2图可看到在每个直肠垫的周围有一圈环带,Marshall称之为附着环(attachment ring, Ar)^[12],使6个直肠垫形成6个规则排列的长卵形,几丁质化,连续地围绕着每个直肠垫。从图5上看结肠内壁有齿,齿尖指向后方,而直肠垫内壁上无齿。

3 讨论

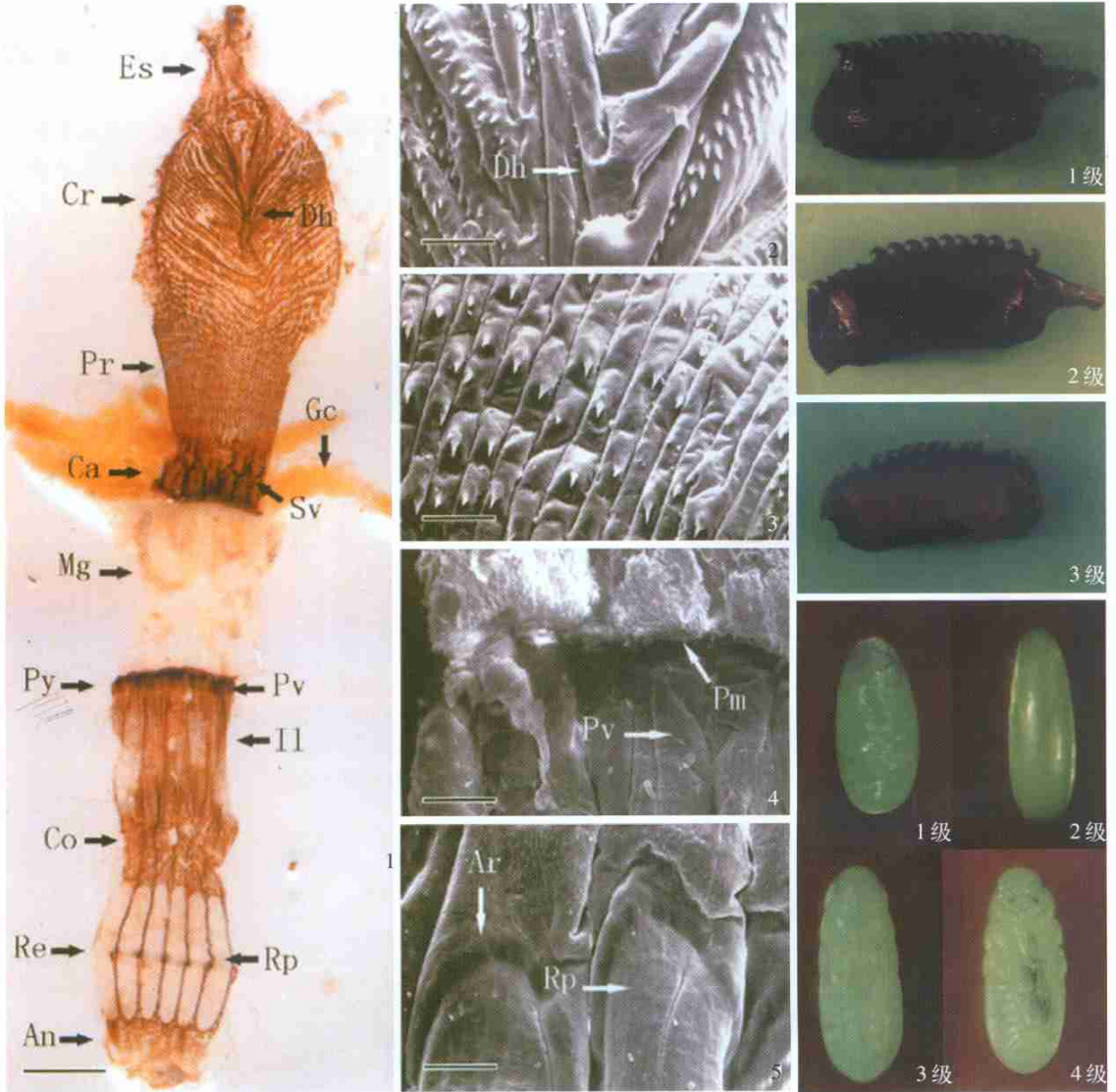
许多学者对蝗虫前肠的研究,其方法是按 Albrecht^[7]的方法游离出前肠,然后按照郑哲民的方法制成封片^[7]。该方法是一种在光学显微镜下观察蝗虫前肠内部结构的有效方法,缺点一是涉及到消化、染色和脱水等步骤,较为烦琐;二是用体视显微镜照相的分辨率远不如目前使用的高分辨光学扫描仪,照相后还存在洗像和放大等步骤,故在所得结果的清晰度上差别较大;三是制成封片后的材料不能用于扫描电镜观察,对蝗虫消化道内部显微结构的观察受到限制。本方法是将扫描仪所用的材料直接用于扫描电镜制样,并对照研究结果,即可定位扫描电子显微镜下蝗虫消化道的准确部位,从活体标本取出消化道,从腹沟处剖开,磷酸缓冲液清洗后,不染色,将消化道内壁翻出,直接铺展于扫描仪玻璃板上进行扫描(图版 1),就能看到自然状态下的结构。由于不经过消化、染色、脱水和封片,也不经过洗像和放大等步骤,而使得结果更为真实可靠。这完全是由于蝗虫消化道本身的特点,其前后肠是由外胚层发育而来,内壁有向内规则凸起的脊,脊上有齿,并肠壁细胞有色素沉着。故直接将消化道的内壁翻出(不经过染色)铺展于扫描仪的玻璃板上进行扫描,就能得到消化道自然状态下的完整图像(图版 1),蝗虫的消化道较细,尤其是食道和结肠部分,直径大约在 1mm。而且有些蝗虫的消化道非常柔软,如负蝗等,故研究其内部的细微结构较为困难。再之由于扫描电镜制样时所取材料的大小受电镜样品室的限制,故不能将完整的消化道放置于扫描电镜下观察,只能取局部消化道的组织置于扫描电子显微镜下观察,从而为定位扫描电子显微镜下的蝗虫消化道的准确部位带来困难。为解决这一难题,我们将扫描仪的图像用于扫描电镜的定位研究,而扫描仪下的图像(图 1)可在放大 50 倍的情

况下进行清晰有效的观察,完全可以用于扫描电子显微镜下蝗虫消化道的显微结构的定位研究,不仅为蝗虫消化道形态结构的研究提供了一个简便有效的方法,也为蝗虫消化道内部超微结构的定位研究提供了一个准确有效的手段。由于蝗虫消化道结构也可作为一个结构形态学方面的分类学指标,本方法同时也为广泛开展蝗虫消化道的形态学研究提供了一个新途径。

参 考 文 献

- 1 Tietz H. M. *Ann. Ent. Soc. Amer.*, 1923, **16**: 256~273.
- 2 Nenyukov D. V., Pufertev I. A. *Plant. Prot. Leningrad.*, 1929, **6**: 21~37.
- 3 Hodge C. J. *Morph.*, 1936, **72**: 203~211.
- 4 Chauvin R. *Bull. Soc. Hist. Nat. Aft. N.*, 1938, **28**: 488~499.
- 5 Atherton R. F., Riedel F. A. *Univ. Col. Stud.*, 1941, **A** (26): 128~130.
- 6 Riedel F. A. *Ann. Ent. Soc. Amer.*, 1946 **39**: 298~303.
- 7 Albrecht F. O. *The Anatomy of the Migratory Locust*. The Athlone Press University of London, 1953. 118.
- 8 刘玉素, 卢宝廉. *昆虫学报*, 1955, **5**(3): 245~260.
- 9 Woodruff B. H. *J. Morph.*, 1933, **55**: 53~80.
- 10 Stuart R. R. *J. Morph.*, 1935 **58**: 173~188.
- 11 Brown A. W. A. *J. Exp. Biol.*, 1937, **14**: 252~253.
- 12 Marshall W. S. *De Geer. Ann. Ent. Soc. Amer.*, 1945 **38**: 461~471.
- 13 Judd W. W. *Can. J. Res.*, 1948, **26**(2): 93~161.
- 14 Bryantseva I. B. *Ent. Oboz.*, 1950, **31**: 13~141.
- 15 Williams L. H. *Trans. Roy. Entomol. Soc. London*, 1954, **105**: 423~454.
- 16 Muralirangan M. C. *Oriental Insects*, 1974, **8**(2): 119~145.
- 17 郑哲民, 席碧侠. *陕西师范大学学报(自然科学版)*, 1996, **24**(4): 61~67.
- 18 席碧侠, 郑哲民. *昆虫分类学报*, 1998, **20**(4): 239~244.
- 19 席碧侠, 郑哲民. *动物分类学报*, 1999, **24**(4): 380~383.
- 20 甘雅玲, 郭中伟. *电子显微学报*, 2002, **21**(5): 582~583.
- 21 李晓玲, 张小民, 郭亚平, 马恩波. *动物学报*, 2005, **51**(增刊): 100~104.
- 22 张小民, 李晓玲, 郭亚平, 马恩波. *动物分类学报*, 2005, **30**(4): 692~696.

图版III 张小民等：蝗虫消化道形态结构研究的一种新方法（见下图左，中列）（正文见P135）



图版IV 金涛等：中华真地鳖雌虫产卵习性及其卵的发育（见上图右列）（正文见P97）

图版V 赵亚娥等：薄荷油体外抗蠕形螨效果及杀螨机制（正文见P74）



图1 加入50%薄荷油后毛囊蠕形螨的变化 (10 × 40) D.f.1 加药前形态 D.f.2 加药后 1 min 23 s 虫体收缩变形, 消化道清晰可见, 有少量渗出物 D.f.3 加药后 3 min 40 s 虫体体壁周围有大量渗出物

图2 加入50%薄荷油后皮脂蠕形螨虫体变化 (10 × 40) D.b.1 加药前形态 D.b.2 加药后 15 s 虫体收缩变形, 足体部有少量渗出物 D.b.3 加药后 2 min 虫体体壁有大量渗出物