

中华真地鳖断触角再生的研究*

谭梁飞^{1,2**} 朱 芬¹ 王小云¹ 高勇勇¹
姚 璇² 张令要² 雷朝亮^{1***}

(1. 华中农业大学昆虫资源研究所, 武汉 430070; 2. 湖北省疾病预防控制中心, 武汉 430079)

摘 要 【目的】研究中华真地鳖 *Eupolyphaga sinensis* (Walker) 断触角再生特征及再生临界期。【方法】选取 1~10 龄健康的初龄若虫一条触角除基部 3 节外剪除, 蜕皮后观察并统计触角的节数。选取生长一致健康的初龄 4 龄若虫, 于第 0~19 日龄进行断触角处理, 蜕皮后观察触角的再生情况和触角的节数。【结果】不同虫龄的初龄若虫断去触角蜕皮后, 均能通过再生使触角的节数增加。1~10 龄的若虫一条触角除基部 3 节外剪除, 蜕皮后下一龄的触角节数分别为 5、8、12、13~15、15~17、16~19、18~20、13~15、20~23、22~25、24~28 节。4 龄的初龄若虫一条触角分别除基部 0~2、3、5、10、15、20 节外剪除, 蜕皮后触角的节数分别为 11~12、13~15、18~21、19~25、24~27 节, 其中一条触角除基部 20 节外剪除蜕皮后基本恢复正常节数。不同日龄的 4 龄若虫一条触角除基部 3 节外剪除蜕皮后, 0~8 日龄的处理若虫蜕皮后触角节数为 13~15 节, 而 12 日龄及以后的处理若虫蜕皮后触角节数为 5~6 节。4 龄若虫的断触角再生临界期为 9~11 日龄。【结论】中华真地鳖在再生临界期内断触角后能够再生触角。
关键词 中华真地鳖, 断触角, 再生, 分生增节, 再生临界期

Antenna regeneration in *Eupolyphaga sinensis* (Blattaria: Corydiidae)

TAN Liang-Fei^{1,2**} ZHU Fen¹ WANG Xiao-Yun¹ GAO Yong-Yong¹
YAO Xuan² ZHANG Ling-Yao² LEI Chao-Liang^{1***}

(1. Institute of Insect Resources, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. Hubei Province Center for Disease Control and Prevention, Wuhan 430079, China)

Abstract 【Objectives】This study was aimed to determine the characteristics and critical period of the regenerative antennae in *Eupolyphaga sinensis* (Walker). 【Methods】Healthy early 1-10th instar nymphs were amputated one of their antennae and the number of antenna segments were documented after their molting. Then 0-19 day old early 4th instar nymphs were treated, observed and counted accordingly. 【Results】Different instar age of nymphs of *E. sinensis* were able to increase the segments of their amputated antenna by regeneration. When antennal segments of 1-10th instar nymphs were amputated to only keep three basal segments, the number of antennal segments of the next instar after the nymph molted were restored as follow: 5, 8, 12, 13-15, 15-17, 16-19, 18-20, 20-23, 22-25, 24-28, respectively. When antennal segments of the 4th instar nymphs were amputated to keep 0-2, 3, 5, 10, 15 or 20 segments, the number of antennal segments of the next instar after the nymph molted were restored as follow: 11-12, 13-15, 15-19, 18-21, 19-25 or 24-27, respectively. Among them, the antennae which were kept 20 segments basically restored to the normal number of segments after molting. Antennae of old nymphs in 4th instars were amputated to keep 3 segments during different day old: for the 0 to 8 days-old ones, the antenna segments were 13-15 after molting, and for the older than the 12 days-old ones, the antenna segments were 5-6 after molting. Therefore, the critical period for regeneration antenna of 4th instar nymphs was from the 9-11 day-old. 【Conclusion】The amputated antennae could regenerate within the regenerative critical period of *E. sinensis*.

Key words *Eupolyphaga sinensis*, antenna amputation, regeneration, segment increase, regenerative critical period

*资助项目 Supported projects: 欧盟合作项目 PROteINSECT (034082)

**第一作者 First author, E-mail: tanliangfei@sina.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: ioir@mail.hzau.edu.cn

收稿日期 Received: 2016-01-07, 接受日期 Accepted: 2016-03-23

目前国内对昆虫的断肢再生研究和报道逐渐增多(陈树椿等, 1999; 江禹等 2002; 王孟卿等, 2004; 李华等, 2007; 张晓欢等, 2008; 谭梁飞等, 2004, 2007)。Bullière 和 Bullière (1985) 详细记录了从 1897—1985 年关于昆虫断肢再生的主要研究, 对附肢断肢再生的研究均有报道。头部器官的附肢中有关触角断肢再生的研究报道较多, 记载了有关美洲大蠊 *Periplaneta americana* 的复眼、折翅蠊科 *Blabera craniifer* 若虫的下颚和下唇须及蜻蜓目有关稚虫的下唇等断肢再生的报道(王孟卿和彩万志, 2004)。马场金太郎对一种蚁蛉幼虫蚁狮研究中发现其上颚颚管在捕食和搏斗时折损随后能够再生丢失的颚管, 但多数再生颚管为畸形, 颚管在不同的部位折断后再生的畸形颚管形状也不相同(江禹等, 2002)。Shaw 和 Bryant (1974) 将大马刺筋长蝽 *Oncopeltus fasciatus* 的触角断去末端的 3 节余下 2 节后, 再生的触角大多为一节, 少数可再生 2 节, 个别只能再生一节分节不是很明显且只有部分节间膜存在。

本文作者曾报道中华真地鳖 *Eupolyphaga sinensis* (Walker) 具有断足再生的能力, 并描述了断足再生的特征、同龄若虫断足的再生临界期及断去足不同部位再生足的发育(谭梁飞等, 2004, 2007; Tan *et al.*, 2013)。在对中华真地鳖的饲养过程发现其同样具有断触角再生的能力, 并对中华真地鳖不同虫龄若虫及成虫的触角节数及触角断后再生的节数; 断去触角的节数; 不同日龄的若虫断触角蜕皮后再生的结果及触角节数进行详细研究, 现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 供试虫源及饲养方法

中华真地鳖 *E. sinensis* 采自湖北罗田县天堂寨, 参照谭梁飞等(2004)的方法于华中农业大学昆虫资源研究所养虫室内饲养。

1.2 不同虫龄若虫和成虫的触角节数及触角断去再生后的节数

选取 1~10 龄的若虫及成虫, 将在冰箱内冷

冻麻醉后在放大镜下观察并统计触角节数(后同), 每个虫龄组个体均在 30 头以上。选取 1~10 龄健康的初龄若虫将一条触角除基部 3 节外剪除, 蜕皮后观察并统计触角的节数。每组均在 15 头以上。

1.3 4 龄若虫断去触角的节数蜕皮后触角的节数

选取生长一致健康的初龄 4 龄若虫, 分 6 组处理, 分别将一条触角除基部 0~2 节、3 节、5 节、10 节、15 节及 20 节外剪除, 蜕皮后观察触角的节数。每组均在 15 头以上。

1.4 不同日龄的 4 龄若虫断触角蜕皮后再生的结果及触角节数

选取生长一致健康的 4 龄初龄若虫, 于第 0~19 日龄的同一时间进行断触角处理, 蜕皮后观察触角的再生情况和触角的节数。每个处理 15 头以上, 在处理前已经蜕皮若虫则不进行断触角处理。

2 结果与分析

2.1 不同虫龄若虫及成虫的触角节数及断触角蜕皮后的节数

不同虫龄的初龄若虫断去触角蜕皮后均能再生使触角的节数较断肢后保留的节数增加, 不同虫龄的若虫及成虫的触角节数及断触角蜕皮后的触角节数如表 1。从表 1 中可见不同虫龄若虫的触角节数随龄期的增加而逐渐增加, 由 1 龄的 13~15 节分别增加到雌成虫的 62~73 节及雄成虫的 60~77 节。每个虫龄若虫的触角节数在一定范围内有所差别, 而且高龄若虫及成虫的触角节数雄虫比雌虫一般多 2~3 节。1~10 龄的若虫将一条触角除基部 3 节外剪除, 蜕皮后下一龄的触角节数分别由 2 龄的 5 节增加到雌雄成虫的 24~28 节, 5 龄以后的虫体触角的节数在一定范围内有所差别, 而且随虫龄的增加节数变化增大。

2.2 4 龄若虫断去触角的节数蜕皮后触角的节数

4 龄的初龄若虫断去触角的节数蜕皮后, 触角的节数如表 2。从表 2 中可见, 触角除

表 1 不同虫龄若虫及成虫的触角节数和断触角再生后的节数
Table 1 The number of antenna segments in different instar nymphs and adults, and the number of regenerated antenna segments after molting

虫龄 Instar	1 龄 1st instar	2 龄 2nd instar	3 龄 3rd instar	4 龄 4th instar	5 龄 5th instar	6 龄 6th instar	7 龄 7th instar	8 龄 8th instar	9 龄 9th instar	10 龄 10th instar	成虫 Adult
不同龄期的触角 节数 Number of sections of different instar antenna	13-15	16-17	18-22	19-24	24-29	31-36	38-43	47-50♀ 48-52♂	50-56♀ 53-58♂	53-66♀	62-73♀ 60-77♂
断后节数 Number of remaining segments of amputated antenna	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
蜕皮后再生触角 节数 Number of segments of regeneration antenna after ecdysising		5	8	12	13-15	15-17	16-19	18-20	20-23	22-25♀	24-28♀/♂

表 2 4 龄若虫触角断去不同节数蜕皮后再生触角的节数
Table 2 The number of regenerated antenna segments after molting in the antenna-amputated 4th instar nymph

触角断后节数 Number of remaining segments of amputated antenna	触角节数 Antenna segments
0-2	3 5 10 15 20
再生触角节数 Number of segments of regeneration antenna	11-12 13-15 15-19 18-21 19-25 24-27

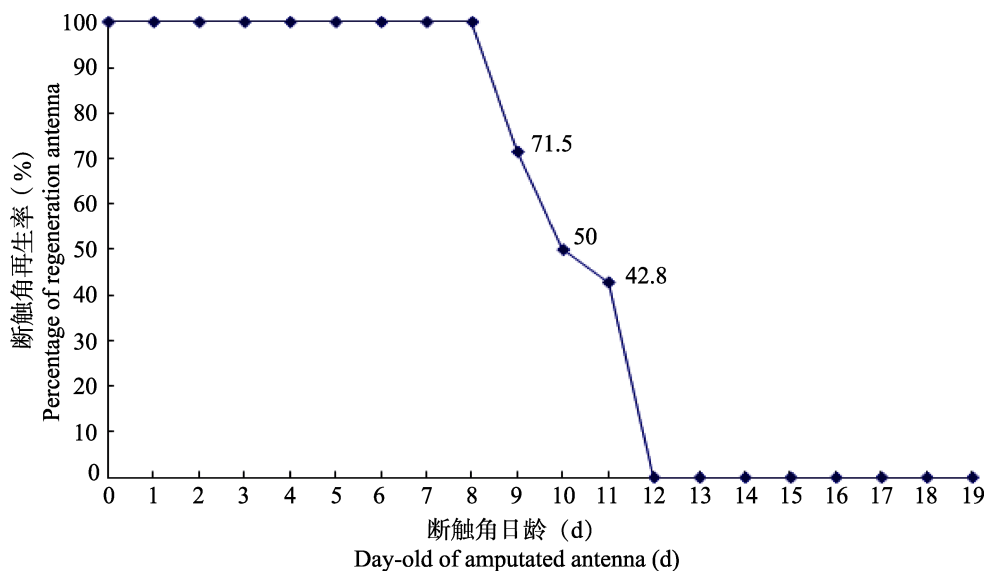


图 1 不同日龄的 4 龄若虫断触角余下 3 节蜕皮后的再生比例
Fig. 1 Regeneration proportion in the antenna segments after molting regeneration of different day-old 4th instar nymphs amputated antenna remaining 3 segments

蜕皮后触角能再生的若虫触角为 13~15 节, 不能再生的若虫触角为 5~6 节。
Nymphs molt after regeneration antenna 13-15 segments, failed regeneration nymph antenna 5 to 6 segments.

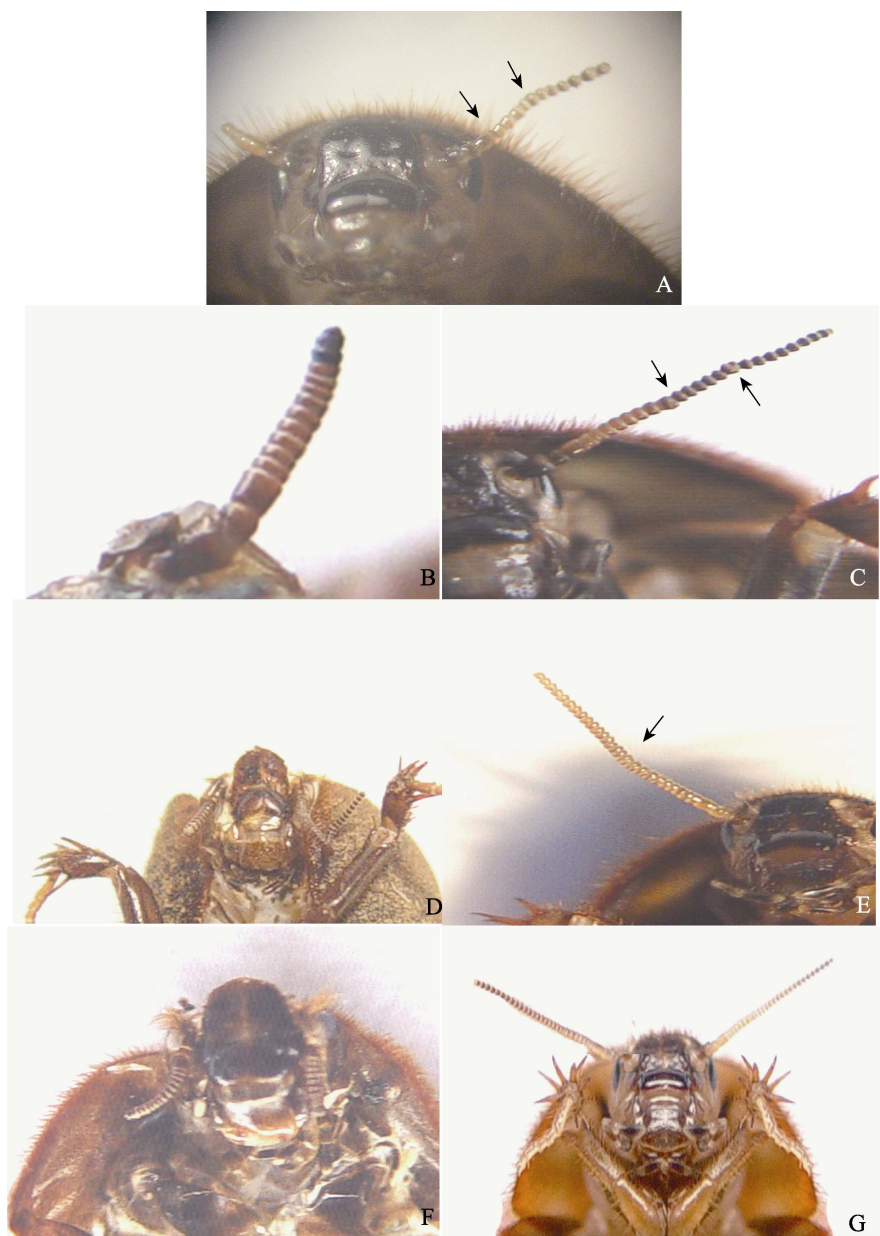


图 2 中华真地鳖断触角再生特征

Fig. 2 The characteristics of regenerated antenna of *Eupolyphaga sinensis*

A. 4 龄若虫在龄初左触角及后期右触角除基部 3 节外剪除蜕皮后的触角 (右触角 5 节为分生增节、左触角 14 节为再生增节且有 2 个折点); B. 为 C 中的若虫所蜕下的蜕 (触角除基部 12 节外剪除); C. 7 龄若虫断去触角末端蜕皮后的再生触角 (触角为 27 节, 并有 2 个折点); D. 图 E 中若虫所蜕下的蜕 (触角除基部 12 节外剪除); E. 8 龄若虫断去触角末端蜕皮后的再生触角 (触角为 29 节, 并有 1 个折点); F. 图 G 中的若虫所蜕下的蜕 (左触角除基部 11 节和右触角除基部 14 节外剪除); G. 8 龄若虫断去两条触角末端后的触角均再生 (左为 28 节、右为 33 节)。

A. Fourth instar nymphs in the early and late instar left right antenna amputated after molting remaining antenna 3 (The right antenna meristem growth section is 5, the left antenna to increase the regeneration section of 14); B. The moulted castings of the nymph from C (amputated antenna remaining 12); C. Seventh instar nymphs amputated the end of the regeneration antenna after molting (with two vertices on the antenna total 27); D. The moulted castings of the nymph from E (amputated antenna remaining 12); E. 8th instar nymphs amputated the end of the regeneration antenna after molting (with one vertices on the antenna total 29); F. The moulted castings of the nymph from G (amputated right antenna remaining 14 and left antenna remaining 11); G. Regeneration of antenna amputated the end of the two antenna in the 8th instar nymph (left antenna 28 and right antenna 33).

基部 0~2 节外剪除蜕皮后触角的节数为 11~12 节,而且断去触角余下的节数对再生触角的节数影响不大。触角除基部 3~20 节外剪除蜕皮后触角的节数从 13~15 增加到 24~27 节,触角的节数均在一定范围内有所变动。4 龄的初龄若虫触角除基部 20 节外剪除蜕皮后触角节数为 24~27 节,5 龄若虫的正常触角节数为 24~29 节,基本恢复正常节数。

2.3 不同日龄的 4 龄若虫断触角蜕皮后再生的结果及触角节数

不同日龄的 4 龄若虫触角除基部 3 节外剪除蜕皮后,触角的再生结果及触角节数如图 1。从图 1 中可见 0~8 日龄的处理若虫蜕皮后触角能再生增节为 13~15 节,而 12 日龄及以后的处理若虫蜕皮后触角能分生增节为 5~6 节。9~11 日龄的处理若虫蜕皮后触角再生的率由 71.5% 减少到 42.8%,9~11 日龄为再生临界期。

2.4 断触角再生的特征

中华真地鳖断去触角蜕皮后,触角较断肢后保留的节数有所增加,断触角处理早的能通过再生的方式增加较多的触角节数,断触角处理晚的只能通过分生的方式增加相对少的触角节数(图 2:A)。断去触角后的若虫,在蜕皮前将残余的触角剖开,观察到触角以折叠一或两次的形式在残余的触角和触角窝内部的表皮下形成;发生断触角再生后的触角再生的节段在蜕皮初期颜色相对较深,触角上有一到两个折点(图 2:A, C, E)。同时断去两条触角时,蜕皮后也可再生(图 2:F, G)。

3 讨论

研究昆虫断肢再生的很多学者均指出昆虫的断肢能否再生能力与蜕皮周期有关(O'Farrell *et al*, 1956; Madhavan and Schneiderman, 1969; Marks and Leopold, 1970; Shaw and Bryant, 1974), Knobloch 和 Steel (1988) 对普热猎蝽 *Rhodnius prolixus* 断足再生的研究表明,断去 1 条后足的腿节后和断头处理的蜕皮临界期时间相同,即再

生临界期与蜕皮激素含量变化有关,与蜕皮激素含量的高峰出现时间相对应,在蜕皮激素大量分泌后进行断足则不能再生失去的足。不同日龄的 4 龄中华真地鳖若虫断去触角与断去一条后足的跗节蜕皮后,它们的再生临界期均一样为 9~11 日龄,再生临界期前后的断触角再生增节或分生增节时对该龄发育历期的影响,也和断去一条后足的跗节时对发育历期的影响一样(谭梁飞等, 2007)。在研究中发现高龄若虫的少数虫体在该龄的后期断去触角蜕皮后也可通过再生增节的方式恢复触角的节数,与再生临界期前断触角为再生增节,再生临界期后断触角为分生增节的结论不一致,可能与高龄若虫龄期长短差异较大,蜕皮激素大量分泌时间延后有关。中华真地鳖不同虫龄若虫断触角再生和断足再生临界期与蜕皮激素大量分泌并作用时间有待进一步研究探讨。

断去触角蜕 1 次皮后可以通过再生增节或分节增生的两种方式增加触角的节数,但蜕第 2 次皮时触角均以分节增生的方式增加触角的节数。4 龄的初龄若虫断去触角余下不同节数的触角时,断去的节数较少时经过 1 到 2 次蜕皮后就可恢复正常的触角节数,断去节数较多时则要经过 2 到 3 次蜕皮后才可恢复正常的触角节数。再生临界期后断触角的 4 龄若虫恢复正常虫龄触角的节数所需的蜕皮次数,比再生临界期前的处理若虫要多。

参考文献 (References)

- Bullière D, Bullière F, 1985. Regeneration //Kerkut GA, Gilbert LI (eds.). *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*, Vol. 2. England: Pergamon Press. 371-424.
- Chen SC, Chen PC, Wang JJ, 1999. A study on the regeneration of tarts in genus *Sinophasma* Günther. *Acta Entomol. Sin.*, 42(2): 159-1651. [陈树椿, 陈培昶, 王缉健, 1999. 三种华枝螯断肢再生的研究. 昆虫学报, 42(2): 159-165.]
- Jiang Y, Liu WQ, Jin AJ, Wang BX, Yin Z, Li H, 2002. Artificial breed of *Baculum inutidentatum* and the regeneration observation of its broken limbs. *J. Jilin Agr. Univ.*, 24(4): 61-63. [江禹, 刘维全, 金爱军, 王本旭, 殷震, 李华, 2002. 小齿短肛棒螯实验室饲养及断肢再生能力的观察. 吉林农业大学学报, 24 (4): 61-63.]

- Knobloch CA, Steel CGH, 1988. Interactions between limb regeneration and ecdysteroid titres in last larval instar *Rhonius prolixus* (Hemiptera). *J. Insect Physiol.*, 34(6): 507–514.
- Li H, Zhang XH, Na J, 2007. The hind leg regeneration in the nymphs of *Gryllus bimaculata*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 44(3): 419–422. [李华, 张晓欢, 那杰, 2007. 双斑蟋若虫后足的再生观察. 昆虫知识, 44(3): 419–422.]
- Marks EP, Leopold RA, 1970. Coackroach leg regeneration: effects of ecdysterone *in vitro*. *Science*, 167(1): 61–62.
- Madhavan K, Schneiderman HA, 1969. Hormonal control of imaginal disc regeneration in *Galleria melonella* (Lepidoptera). *Biol. Bull.*, 137(2): 321–331.
- O'Farrell AF, Stock A, Morgan J, 1956. Regeneration and the moulting cycle in *Blattella germanica* L. IV. Single and repeated regeneration and metamorphosis. *Austral. J. Biol. Sci.*, 9(3): 406–422.
- Shaw VK, Bryant PJ, 1974. Regeneration of appendages in the large milkweed bug, *Oncopeltus fasciatus*. *J. Insect Physiol.*, 20(9): 1847–1857.
- Tan LF, Zhu F, Liu J, Zhou XM, Lei CL, 2004. Leg regeneration of *Eupolyphaga sinensis* (Blattaria: Corydiidae). *Acta Entomol. Sin.*, 47(6): 719–724. [谭梁飞, 朱芬, 刘静, 周兴苗, 雷朝亮, 2004. 中华真地鳖的断肢足再生. 昆虫学报, 47(6): 719–724.]
- Tan LF, Zhu F, Xiong Q, Zhou XM, Lei CL, 2007. Influence of leg regeneration on development of *Eupolyphaga sinensis*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 44(1): 101–104. [谭梁飞, 朱芬, 熊强, 周兴苗, 雷朝亮, 2007. 中华地鳖断足再生对发育的影响. 昆虫知识, 44(1): 101–104.]
- Tan LF, Zhao Y, Lei CL, 2013. Development and integrality of the regeneration leg in *Eupolyphaga sinensis*. *Bull. Insectol.*, 66(2): 173–180.
- Wang MQ, Cai WZ, 2004. Research advances on insect appendage regeneration. *Chinese Bulletin of Entomology*, 41(2): 127–131. [王孟卿, 彩万志, 2004. 昆虫肢体再生的研究进展. 昆虫知识, 41(2): 127–131.]
- Zhang XH, Li N, Li H, Na J, 2008. Effect of molting hormone on regeneration of the metathoracic tibia of *Gryllus bimaculatus*. *J. Shenyang Normal Univ. (Nat. Sci.)*, 26(1): 92–94. [张晓欢, 李娜, 李华, 那杰, 2008. 蜕皮激素对双斑蟋后足足节再生的影响. 沈阳师范大学学报(自然科学版), 26(1): 92–94.]