应用昆虫学报 *Chinese Journal of Applied Entomology* 2018, 55(4): 698–704. DOI: 10.7679/j.issn.2095–1353.2018.087

家蚕幼虫咽侧体体积变化分析*

李亚腾[1**] 张 亮[1] 李 田[1] 王小康[1] 赵 威[1] 陈 萍[1, 2***]

（1. 西南大学生物技术学院，重庆 400715；2. 农业部蚕桑生物学与遗传育种重点实验室，重庆 400715）

摘 要 **【目的】** 本试验旨在研究不同生长发育时期家蚕幼虫咽侧体及其腺细胞的变化。**【方法】** 选取家蚕 4 眠蚕中限品种作为实验材料，对其 4 龄、5 龄等时期进行解剖处理，得到咽侧体后进行透析处理与 DAPI 染色，在荧光显微镜下成荧光像图，结合软件分析工具测量咽侧体横截面积直径与细胞数量来确定家蚕咽侧体及其腺细胞在不同生长时期的变化。**【结果】** 咽侧体体积随幼虫生长发生了明显增长；咽侧体细胞数目随幼虫生长会增加，但比较缓慢。随着幼虫的生长，腺细胞体积会增大，同时咽侧体体积增长与腺细胞核体积增长有极显著相关性。**【结论】** 家蚕咽侧体体积增长主要源于腺细胞体积的增大而稍带腺细胞数目的增加，家蚕幼虫咽侧体体积与生长发育的时间经过密切相关。

关键词 家蚕，咽侧体，腺细胞，体积

Change in the corpus allatum of silkworm, *Bombyx mori*, larvae

LI Ya-Teng[1**] ZHANG Liang[1] LI Tian[1] WANG Xiao-Kang[1] ZHAO Wei[1] CHEN Ping[1, 2***]

(1. College of Biotechnology, Southwest University, Chongqing 400715, China; 2. Agriculture Ministry Key Laboratory of Sericulture Biology & Genetic Breeding, Chongqing 400715, China)

Abstract **[Objectives]** To investigate changes in the corpus allatum and glandular cells of silkworm larvae at different stages of development. **[Methods]** The corpus allatum was dissected from fourth and and fifth instar larvae of the tetramolter Zhongxian variety of silkworm. Fluorescent images of the corpus allatum and glandular cells were obtained using a fluorescent microscope after dialysis treatment and DAPI staining and combined with an analysis tool to measure the cross sectional area of the corpus allatum and the number of glandular cells. **[Results]** The volume of the corpus allatum increased significantly as larvae developed. The number of glandular cells also increased with the development but this was relatively slow. As larvae developed, the volume of glandular cells increased, and the volume of the corpus allatum was significantly correlated with glandular cell size. **[Conclusion]** The increase in the volume of the corpus allatum in silkworm larvae is mainly due to the increased volume of glandular cells. The number of glandular cells and the volume of the corpus allatum is closely related to the developmental stage of larvae.

Key words silkworm, corpus allatum, glandular cells, volume

咽侧体（Corpus allatum，CA）是昆虫重要的内分泌腺体，作为合成和分泌保幼激素（JH）唯一场所与昆虫的生长发育、蜕皮变态以及卵巢发育和生殖等生理活动有关（Day，1943；Ichikawa and Kaji，1950）。将家蚕 4 龄幼虫、5 龄幼虫、蛹和蛾的咽侧体移植到永久蛹（Dauer-pupae）体内，永久蛹能发育成蛾（Kobayashi and Yamashita，1959）。郭郛等（1965）的实验显示，摘去羽化 2 日内东亚飞蝗 *Locusta migratoria manilensis* 成虫的咽侧体，雄蝗交配次数减少，雌蝗的卵巢不能发育；如将咽侧体植入正常交配或人为孤生殖雌蝗体内，将缩短产卵前的时间经

*资助项目 Supported projects：重庆市基础研究与前沿探索（cstc2018jcyjAX0075）；.重庆市 2018 年度茧丝绸发展补助资金项目

**第一作者 First author，E-mail：m13206018795@163.com

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：chenping1918@swu.edu.cn

收稿日期 Received：2017-09-27，接受日期 Accepted：2018-02-05

过并增加产卵量。吴秋雁和郭郛（1963）发现粘虫 *Leucania separat* 雌蛾卵粒中卵黄的沉积速度与咽侧体体积变化相关，交配后雌蛾咽侧体体积增大的同时卵黄沉积最快。同时咽侧体也与昆虫的滞育有关。如摘去家蚕 5 龄幼虫尤其是 5 龄 3 天幼虫的咽侧体，原本产滞育性卵的将产非滞育性卵（Shimmads，1986）；油松毛虫 *Duactatus punctatus tabulaeformis* 在咽侧体细胞数目、细胞核大小以及细胞质中内含物在滞育和非滞育时期也有明显差异（甘雅玲等，2000）。

咽侧体起源于外胚层，通常为卵圆形或球形，大部分昆虫的咽侧体成对出现在心侧体的侧下方食道两侧附近（Cazal，1948；Mendes，1948）。咽侧体大小依据直径的长轴或短轴以及腺细胞数目和腺细胞大小的不同分为不同种类。物种之间有很大差异，即使同一物种腺体大小因性别、年龄、腺体的活力周期也存在差异（Stephen *et al.*，1985）。咽侧体是由一层非细胞的结缔组织薄膜包裹腺细胞构成，上面分布有神经纤维等（Pfeiffer，1939；Virantdoberlet，1994）。Chiang 等（1991）通过对新鲜咽侧体酶解获得的细胞悬浮液统计测量，发现德国小蠊 *Blattella germanica*、棕带皮蠊 *Supella longipalpa* 和太平洋折翅蠊 *Diplotera punctata* 等成虫雌咽侧体细胞数目及其大小在卵母细胞成熟期被决定，而且腺细胞数目在咽侧体激活期是不变的，它们的咽侧体腺细胞数目分别为 2 000 个、3 500 个和 11 000 个左右（Ann-Shyn *et al.*，1989），并认为成虫雌咽侧体细胞体积变化与 JH 合成周期同步。张晓龙等（2000）的实验结果显示，丙酮对德国小蠊雌性成虫的咽侧体生长无影响，左、右咽侧体体积无显著性差异。

家蚕咽侧体为乳白色半透明椭圆体。目前有家蚕咽侧体生长特别迅速的说法，但具体的研究报道很少。本文利用现代组织化学和细胞生物学等研究手段对咽侧体进行通透染色，然后在荧光显微镜下拍摄成像获得咽侧体的投影平面图，即咽侧体的横截面像图，再结合软件工具测量咽侧体横截面直径的相对值来估计体积，并统计横截面像图上的细胞数目以及测量代表性细胞核直径的相对值来估计细胞核体积，由此来探究不同生长发育时期家蚕幼虫咽侧体及其腺细胞的变化。

1　材料与方法

1.1　实验材料

实验材料为西南大学家蚕遗传育种研究室所饲养的四眠蚕实用蚕品种中限。样品采集：每个时期中限家蚕品种各取 10 头。

1.2　主要试剂及器材

Tris、Tween-20、Triton-X 100、多聚甲醛（上海生工），PBS（自制），DMSO、乙醇、NaCl（重庆化学试剂厂），DAPI 染色液、BSA（碧云天），解剖镜（Touptek），荧光显微镜（Olympus），Matlab 和 Adobe photoshop cc (64bit)软件。

1.3　实验方法

1.3.1　咽侧体的摘取　在解剖镜下解剖活体幼虫头部，取出脑-咽侧体的复合体（咽侧体复合体），在 PBS（pH7.2）中剔除脂肪等其它杂物。家蚕幼虫头部很小，咽侧体位于头部内经心侧体与脑连接（图 1）。

1.3.2　咽侧体复合体透析和 DAPI 染色　将在 Wash buffer（Tween-20 10 μL；0.01 mol·L^{-1} PBS 10 mL）清洗过的咽侧体复合体用 4%的多聚甲醛在 4 ℃固定 12-16 h 后，用 Wash buffer 清洗 2 次（每次 10 min），在透析液Ⅰ（pH 6.8 Tris 15 mL；NaCl 2.63 g；Triton-X 100 1.5 mL；BSA 0.3 g）中 4 ℃透析 2 d 和透析液Ⅱ（乙醇 80 mL；DMSO 20 mL）中－20 ℃透析 4 h，DAPI 染色（30 min-2 h）前后都用 Wash buffer 清洗组织 2 次（每次 10 min），然后将咽侧体复合体依次放于 50%、60%、70%、80%、90%、100%等乙醇梯度中各脱水 5 min。

1.3.3　咽侧体体积的估计方法　将经过通透处理和 DAPI 染色的咽侧体在荧光显微镜下拍摄成荧光像图，利用 Adobe photoshop cc(64bit)软件对放大 160×的图像测量长轴（a）和短轴（b）

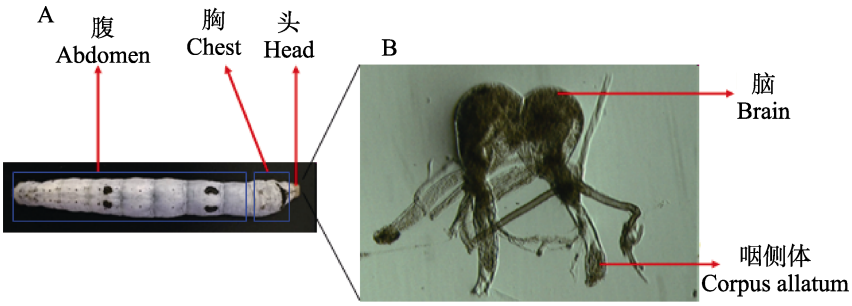

图 1　家蚕幼虫及咽侧体

Fig. 1　The silkworm larvae and its corpus allata

A. 家蚕 5 龄 4 天大造幼虫；B.家蚕幼虫脑-咽侧体的复合体（×70）。

A. The dorsal view of fifth instar larvae under naked eye; B. The brain-corpus allata complex under microscope (×70).

长度（L：像素数），再由公式 S(面积)=π(圆周率)×a(长轴)×b(短轴)计算咽侧体横截面面积，用此观察咽侧体体积（图 2）。

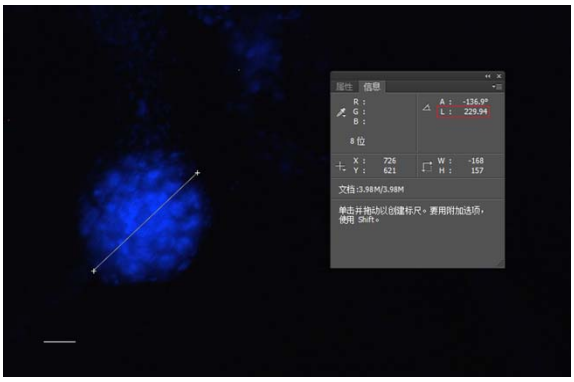

图 2　咽侧体横截面直径测量示意图

Fig. 2　The sketch map on measuring diameter of cross section of corpus allata

比例尺：100 μm。图 3 同。

Scale bar is 100 μm. The same as Fig.3.

1.3.4　腺细胞数目统计和细胞核体积估计方法　本文对获得的咽侧体横截面图用 Adobe photoshop cc (64bit)软件增加锐化度使细胞核边界显示更加明显（图 3），统计平面上的细胞数目来观察整个咽侧体细胞数目变化。同时，用 1.4 方法测量代表性细胞核直径，计算横截面面积来观察细胞核体积。

2　结果与分析

我们观察 4 眠蚕实用蚕品种中限 4 龄 1 d（4L1D）、4 龄 2 d（4L2D）、4 龄 4 d（4L4D，4 龄末期）、5 龄 1 d（5L1D）、5 龄 2 d（5L2D）、熟蚕（5 龄末期）、预蛹期（蛹化前）等时期的咽侧体及其腺细胞，每个时期采集 4-6 个有效样本的数据。

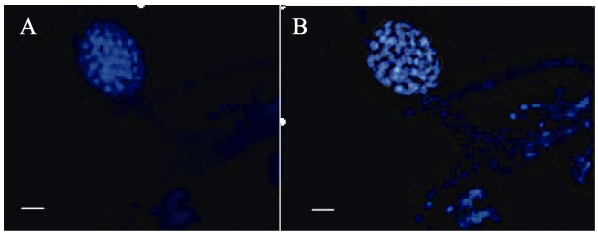

图 3　提高细胞清晰度的示意图

Fig. 3　The sketch map on increasing visibility of cell

A. 观察细胞核；B. 提高清晰度。

A. Viewing nuclear; B. Improved clarity.

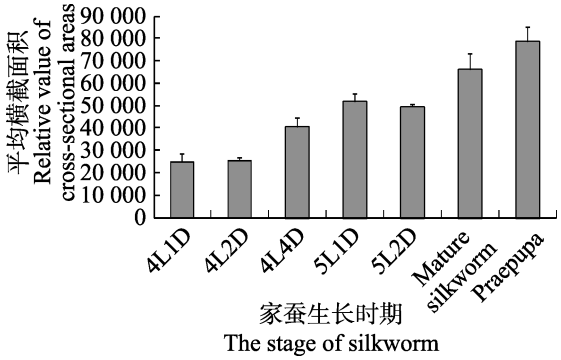

图 4　家蚕幼虫生长发育时期咽侧体横截面面积相对值

Fig. 4　The relative value of cross-sectional area of corpus allata in various growth and development stages of silkworm larvae

4L1D、4L2D、4L4D、5L1D、5L2D、Mature silkworm、Praepupa 分别代表家蚕 4 龄 1 d、4 龄 2 d、4 龄 4 d、5 龄 1 d、5 龄 2 d、熟蚕、预蛹时期。

2.1　咽侧体体积

咽侧体呈球形或椭圆形，横截面面积是球体体积大小的重要特征。从咽侧体横截面面积的相对值看（图 4），不管是 4 龄幼虫还是 5 龄幼虫，生长到第 2 天幼虫的咽侧体横截面面积与第 1 天幼虫的相比差异不大，但是龄末比龄初面积增大非常明显，如 4L2D 的咽侧体横截面面积仅比 4L1D 的增加 1%，5L2D 的仅比 5L1D 的增加 5%，而 4L4D（4 龄末期）的比 4L1D 的、熟蚕（5 龄末期）的比 5L1D 的咽侧体横截面面积分别增大 62%和 29%左右（表 1）。这些表明食桑生长期幼虫咽侧体体积增长幅度较大，其中增长主要发生在龄期的中后期，龄初增长较慢或者不增长，而且 4 龄生长期的增长幅度远远超过 5 龄生长期。另外，5 龄 1 d 与 4 龄末期相比咽侧体横截面面积约增长 22%，预蛹期咽侧体横截面面积比熟蚕的增大约 20%（表 1），即在眠-蜕皮和变态蛹化两类生长发育转化期幼虫咽侧体体积都发生了明显增长。总的看来，与 4L1D 相比，5L1D 的增大了 107%，熟蚕的增大了 166%，预蛹期的增大了 216%，咽侧体体积随幼虫生长发育确实发生了快速生长。

表 1　咽侧体横截面面积增幅

Table 1　The increase rate of cross-sectional area in corpus allata

时期 Period	4L1D-4L2D	4L1D-4L4D	4L4D-5L1D	5L1D-5L2D	5L1D-熟蚕 Mature silkworm	熟蚕-预蛹 Mature-praepupa silkworm	4L1D-5L1D	4L1D-熟蚕 Mature silkworm	4L1D-预蛹 Praepupa	5L1D-预蛹 Praepupa
增幅（%） Increase rate (%)	1	61	22	4	35	20	98	166	216	60

L 表示龄期，D 表示天数。表 2 表示相同。L for the stage, D for the day. The same as table 2.

2.2　咽侧体细胞数目

横截面上的细胞数目是整个咽侧体细胞数目的重要代表。4L1D 的细胞数目是 46 个，4L2D 和 4L4D 的细胞数目分别是 48 个和 51 个；5L1D 的细胞数目是 52 个，5L2D、熟蚕以及预蛹期的细胞数目分别是 54、56 和 63 个（图 5）。因此，随幼虫生长发育，咽侧体的细胞数目有增加，但比较缓慢。

用 Matlab 工具对调查获得的成对的咽侧体横截面面积（x）和横截面上的细胞数目（y）进行相关性分析，获得相关系数 ans = 0.8656，在 0.5-1.0 的范围，属于显著相关。说明横截面面积增加与细胞数目增加有明显的相关关系，即咽侧体体积变化与细胞数目增加有关。

2.3　腺细胞体积

在细胞数目调查中，选取 4L1D、4L2D、5L2D、熟蚕以及蛹化前等时期每个样本图像中的细胞，测量其细胞核横截面直径的相对值来估算横截面面积，由此观察细胞核体积的变化。为避免图像周缘失真引起误差，选取位于图像中心区域的 3 个细胞作为代表进行观察测量。获得的腺细胞核横截面面积相对值显示（图 6），随幼

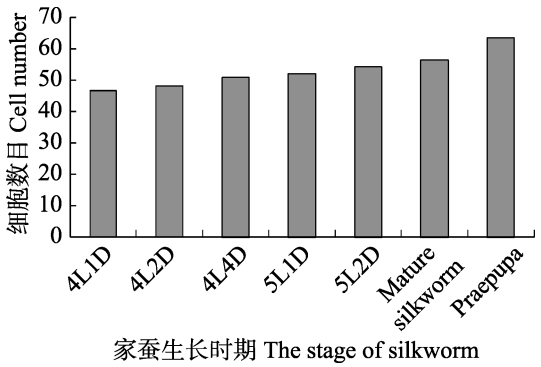

图 5　家蚕幼虫生长发育时期咽侧体横截面上细胞数目

Fig. 5　The cell number on cross-sectional area of corpus allata in various growth and development stages of silkworm larvae

4L1D、4L2D、4L4D、5L1D、5L2D、Mature silkworm、Praepupa 分别代表家蚕 4 龄 1 d、4 龄 2 d、4 龄 4 d、5 龄 1 d、5 龄 2 d、熟蚕、预蛹时期。

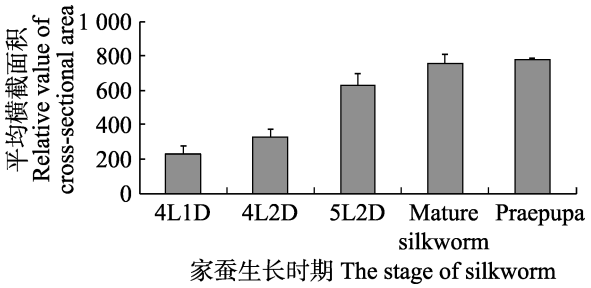

图 6　家蚕幼虫生长发育时期咽侧体细胞核横截面面积相对值

Fig. 6　The relative value of cell cross-sectional area of corpus allata in various growth and development stages of silkworm larvae.

4L1D、4L2D、5L2D、Mature silkworm、Praepupa 分别代表家蚕 4 龄 1 d、4 龄 2 d、5 龄 2 d、熟蚕、预蛹时期。

虫生长咽侧体腺细胞核体积也发生了增长。从 4L1D 到 4L2D 历经 1 d 时间腺细胞核的横截面面积就增大约 30%，到 5L2D 的横截面面积增幅达到 147% 左右（表 2）。5 龄中后期咽侧体的细胞核体积增长变慢，尤其熟蚕以后，如从 5L2D 到熟蚕历经 5 d 时间，细胞核横截面面积增幅为 20%左右，熟蚕到预蛹期经历 3 d 时间，面积仅增长 2.6%（表 2）。总的来看，从 4 龄起蚕到 5 龄初期这段时间，腺细胞核体积增长最快。

用 matlab 工具计算获得的咽侧体横截面面积（x）和腺细胞核横截面面积（y）的相关系数为 0.964 1，说明咽侧体体积增长与腺细胞核体积增长有极显著相关性。

表 2　咽侧体腺细胞横截面面积增大幅度

Table 2　The increase rate of nucleus cross-sectional area in corpus allata

时期 Period	4L1D-4L2D	4L1D-5L2D	4L2D-5L2D	5L2D-熟蚕 Mature silkworm	5L2D-预蛹 Praepupa	熟蚕-预蛹 Mature praepupa silkworm
增幅（%） Increase rate (%)	30	147	90	20	24	3

3　讨论

因为家蚕幼虫头部较小，而咽侧体又是头部内与脑连接的一个非常小的椭圆体，观察度量难度大大阻碍了相关研究。本研究利用自己改良建立的适合小器官通透染色的现代生物学方法结合软件工具进行辅助观察测量特征值的相对值，来研究咽侧体随幼虫生长在组织解剖学上的变化，克服了历史上研究微型器官条件要求高、难度大、不易进行的困难，是组织学研究方法的创新。

电镜观察显示，家蚕幼虫第 4 次蜕皮期咽侧体腺细胞内的细胞器大量增加，5 龄 8 d 后腺细胞内出现脂滴并逐渐增加，幼虫期腺细胞内线粒体为球形，到蛹期腺细胞内线粒体就变成棒状，成虫期腺细胞的超微结构在雌雄之间无明显差异，腺细胞超微结构因家蚕生长发育的时期和阶段、腺细胞分泌活力不同而异（Akai，1986；Ura，1986；Banno and Akai，2010）。我们的实验结果显示，咽侧体体积、腺细胞数目和细胞核体积都随幼虫生长而增长，其中腺细胞数目和细胞核体积的增长与咽侧体体积的增长的相关系数分别为 0.865 6 和 0.964 1，细胞核体积与咽侧体体积有更强的相关性，即腺细胞体积的增长比细胞数目的增多对咽侧体体积增大的贡献更大。这个相似于蜚蠊第一次卵巢循环中咽侧体激活主要相关于细胞体积增加而细胞数目稍微变化的报道（Stephen *et al.*，1985）。有趣的是，咽侧体横切面面积增加与腺细胞核横截面面积增加并不完全同步，如 4 龄初期咽侧体的增加比较小仅 1%，但腺细胞核的增幅却达到 30%，同时蛹化变态期咽侧体体积增加为 20%，但腺细胞核的增幅仅 3%。推测这种增长不同步可能源于细胞体积的变化是细胞核和腺细胞超微结构（细胞质内容物）变化共同作用的结果。

LC-MS 分析显示，家蚕血液中 JH 在各个龄期的初始阶段较高，随后逐渐下降，其中 3 龄和 4 龄的滴度远远高于 5 龄，5 龄 1 d 到 6 d

几乎检测不到 JH，少量 JH 在 5 龄末期先升高后下降，蛹化阶段 JH 滴度陡然升高成整个发育过程的最高水平（Furuta *et al.*，2013）。咽侧体合成和分泌到血液中的保幼激素滴度随家蚕生长发育周期呈动态性变化（Niimi and Sakural，1997；Sakurai *et al.*，1998；Furuta *et al.*，2013）。我们的实验结果显示，家蚕幼虫咽侧体体积在食桑生长的龄初增长较慢，中后期增长较快，在幼虫眠-蜕皮和蛹化变态等非摄食期也发生了较大幅度增长，体积变化与血液中 JH 滴度即咽侧体分泌活力周期性变化没有明显一致性，而是随机体生长发育不断增长。同时实验得到了生长发育的时间经过相同，但因眠性差异导致成熟度不同的 4L2D 三眠蚕和 4L4D 四眠蚕之间咽侧体横截面面积没有明显差异的调查结果（图 7）。即家蚕咽侧体体积变化与生长发育经过密切相关，而与其分泌活力周期没有明显一致性。但是，家蚕成虫期合成分泌 JH 的雌性咽侧体和腺细胞体积明显大于不合成 JH 的雄性咽侧体和腺细胞体积，显示体积变化与分泌活动有关（Ueda *et al.*，2009），德国小蠊生殖营养期雌性咽侧体细胞体积变化与 JH 合成周期同步。因此，昆虫咽侧体体积变化可能牵涉更加复杂的生理活动及生物学功能，是进一步认识相关机制的重要线索。

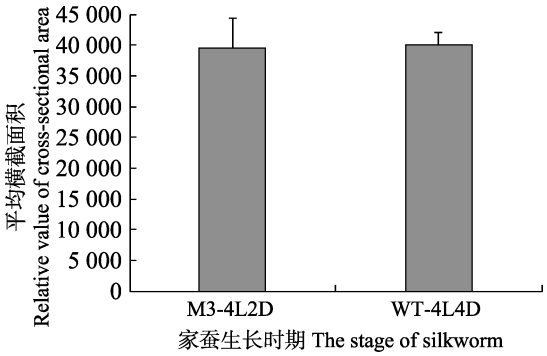

图 7　经历相同生长发育时间但成熟度不同的家蚕幼虫咽侧体横截面面积相对值

Fig. 7　The relative value of cell cross-sectional area of corpus allata between maturity of larvae with the same time passed for growth and development

M3-4L2D、WT-4L4D 分别表示突变型 4 龄 2 d、野生型 4 龄 4 d 家蚕。M3：突变型三眠蚕；WT：野生型四眠蚕。M3: Mutant type; WT: Wild type.

4　结论

本研究建立了一种微小器官的研究方法，是组织学研究方法的创新；通过观察不同生长发育时期咽侧体及其细胞核，首次估算了咽侧体及细胞体积的具体增长幅度，依据相关性分析提出了家蚕咽侧体体积增长主要源于腺细胞体积的增大而稍带腺细胞数目的增加，证明了家蚕幼虫咽侧体体积与生长发育的时间经过密切相关；认为咽侧体体积变化是研究其生理学及生物学机制的重要线索之一。

参考文献 (References)

Akai H, 1986. Ultrastructural changes of corpus allatum during the larval molting cycle in *Bombyx mori*. *Journal of Sericultural Science of Japan*, 55(5): 397–409.

Ann-Shyn C, Michal G, Coby S, 1989. Morphometric analysis of corpus allatum cells in adult females of three cockroach species. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 67(2/3): 179–184.

Banno Y, Akai H, 2010. Ultrastructural changes of corpus allatum in the imaginal stages in the silkworm, *Bombyx mori*. *Journal of Insect Biotechnology & Sericology*, 57(5): 431–437.

Cazal P, 1948. Les glandes endocrines retro-cerebrales des insectes. *Bull. Biol. France et Belgique*, 32(Suppl.): 1–227.

Chiang AS, Gadot M, Burns EL, Schal C, 1991. Developmental regulation of juvenile hormone synthesis: ovarian synchronization of volumetric changes of corpus allatum cells in cockroaches. *Mol. Cell Endocrinol.* , 75(2): 141–147.

Day MF, 1943. The function of the corpus allatum in muscoid diptera. *Biological Bulletin*, 84(2): 127–140.

Furuta K, Ichikawa A, Murata M, Kuwano E, Shinoda T, Shiotsuki T. 2013. Determination by LC-MS of Juvenile hormone titers in hemolymph of the silkworm, *Bombyx mori*. *Bioscience Biotechnology & Biochemistry*, 77(5): 988.

Granger NA, Bollenbacher WE, Vince R, Gilbert LI, Baehr JC, Dray F, 1979. *In vitro* biosynthesis of juvenile hormone by the larval corpora allata of *Manduca sexta*: Quantification by radioimmunoassay. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 16(1): 1–17.

Guo F, 1965. An reproduction study of *Locusta migratoria manilensis*: The role of corpus allatum. *Acta Entomologica Sinica*, 13(5): 211–223. [郭郛, 1965. 东亚飞蝗生殖的研究: 咽侧体的作用. 昆虫学报. 13(5): 211–223.]

Ichikawa M, Kaji S, 1950. Function of the corpus allatum in the

silkworm (*Bombyx mori*). *Annotationes Zoologicae Japonenses*, 33(5): 422–423.

Kobayashi M, Yamashita Y, 1959. A function of corpus allatum in neurosecretory system in the silkworm, *Bombyx mori*. *Journal of Insect Biotechnology & Sericology*, 28(6): 335–339.

Mendes MV, 1948. Histology of the corpora allata of *Melanoplus differentialis* (Orthoptera: Saltatoria). *Biological Bulletin*, 94(3): 194–207.

Niimi S, Sakurai S, 1997. Development changes in juvenile hormone and juvenile hormone acid titers in the hemolymph and in vitro juvenile hormone synthesis by corpora allata of the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Insect Physiol.* , 43(9): 875–884.

Pfeiffer IW, 1939. Experimental study of the function of the corpora allata in the grasshopper, *Melanoplus differentialis*. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology*, 82(3): 439–461.

Shimada S, 1986. The role of corpus allatum of *Bombyx mori* in induced diapause. *Japanese Silk Journal*, 55(1): 33–40. [岛田顺, 1986. 家蚕咽侧体在诱导卵滞育中的作用. 日本蚕丝学杂志, 55(1): 33–40.]

Stephen ST, Stay B, 1985. Structure and regulation of the corpus allatum. *Advances in Insect Physiology*, 18(6): 305–432.

Ueda H, Shinoda T, Hiruma K, 2009. Spatial expression of the mevalonate enzymes involved in juvenile hormone biosynthesis in the corpora allata in *Bombyx mori*. *Journal of Insect Physiology*, 55(9): 798–804.

Ura T, 1986. Ultrastructural changes of corpora allata during larval and pupal stages in the silkworm, *Bombyx mori*. *Applied Entomology and Zoology*, 21(4): 509–514.

Virantdoberlet M, Horseman G, Loher W, Huber F, 1994. Neurons projecting from the brain to the corpora allata in orthopteroid insects: anatomy and physiology. *Cell & Tissue Research*, 277(1): 39–50.

Wu QY, Guo F, 1963. The function of corpus allatum about the development and maturity of ovary in armyworm, *Mythimna separate*. *Acta Entomologica Sinica*, 12(4): 402–411. [吴秋雁, 郭郛, 1963. 粘虫咽侧体对卵巢发育与成熟的作用. 昆虫学报. 12(4): 402–411.]

Gan YL, Li SW, 2000. The ultrastructure of corpus allatum of *Dendrolimus tabulaeformis*. China Insect Society Annual Conference. Yichang, Hubei. 174. [甘雅玲, 李世文, 2000. 油松毛虫咽侧体的超微结构. 中国昆虫学会学术年会. 湖北宜昌. 174.]

Zhang XL, Feng D, Luo B, Du XJ, 2000. Dynamic changes of corpus allatum of female *Blattella germanica*. China Insect Society Annual Conference. Yichang, Hubei. 171–173. [张晓龙, 冯丹, 罗斌, 杜云静, 2000. 德国小镰雌虫咽侧体的动态变化. 中国昆虫学会学术年会. 湖北宜昌. 171–173.]