

昆虫的听觉器官*

王 珊** 那宇鹤 冷 雪 那 杰***

(沈阳师范大学 化学与生命科学学院 沈阳 110034)

Insect auditory organs. WANG Shan**, NA Yu-He, LENG Xue, NA Jie*** (*College of Chemistry & Life Science, Shenyang Normal University, Shenyang 110034, China*)

Abstract Insect auditory organs play a crucial role in the lives of many insects. The main three types of auditory organs found in insects are auditory hairs, Johnston's organ and tympanic organs. The structure and physiological function of these three types of auditory organs, and the evolution of hearing in insects is discussed.

Key words insect auditory organs, tympanum organ, chordotonal organ, evolution

摘 要 昆虫的听器是一类对声波具有特异感受作用的器官,对其生存具有非常重要的意义。昆虫的听器主要有听觉毛、江氏器和鼓膜听器 3 种类型。本文主要介绍了昆虫 3 种听器的结构和功能特点,并从系统发生和个体发育角度介绍了鼓膜听器的演化过程。

关键词 昆虫听觉,鼓膜听器,弦音器,进化

昆虫是动物界中种类最多,数量最大,分布最广,适应能力最强,与人类关系极为密切的一类动物。其种类约占动物种数的 3/4。昆虫在亿万年的进化过程中形成了适应本身需要的感受器官。

昆虫的听觉感受器是一类对声波具有特异感受作用的器官。昆虫的听觉格外灵敏,在很多方面都有重要的作用,如逃避捕食者,进行种内的信息交流和寻找配偶等。关于昆虫听器的仿生研究也取得了不少成果,如根据声波机理制成的声音诱捕器或超声波驱逐器已应用于农业上的害虫防治^[1]。与脊椎动物的听器相比较,昆虫的听器要简单得多,所以更易建立模型和开展研究,可为研究更为复杂的听觉系统提供借鉴和参考。根据近些年来国内外关于昆虫听器的研究成果,本文主要综述昆虫听器的结构与功能特点及其听器的进化过程。

1 昆虫的听觉器官

听器在昆虫身体上的分布没有明显规律,可在头部、胸部、腹部上找到。如蟋蟀和螽斯的听器位于前足胫节基部,蚱蜢的听器在胸部,金

龟子的听器位于颈部,而螳螂的听器则在后胸腹面中线的沟槽内。昆虫的听器主要有 3 种类型:听觉毛、江氏器和鼓膜听器。

1.1 听觉毛

听觉毛的结构简单,特化程度较低,一般仅有一个神经细胞和毛囊窝连接。其主要着生于体表,尤以触角、触须、尾须等处最为敏感。听觉毛除了感受机械刺激外,还能感受低频率的声波及气流给予的压力,所以在功能上更像是触觉感受器。据报道,德国小蠊、飞蝗、蟋蟀、地老虎和夜蛾等都有听觉毛,所以它们在鼓膜听器受损后仍可借此对声波刺激保持一定的敏感性^[2]。

1.2 江氏器

江氏器是一种结构较复杂的弦音器,由多个具感器组成。具感器又称剑鞘感受器,是构成弦音器的基本单位,由感觉神经元、感

* 资助项目:沈阳师范大学实验中心主任基金(SY200907)。

** E-mail: jelly5253521@yahoo. com. cn

*** 通讯作者, E-mail: synunajie@yahoo. com. cn

收稿日期:2009-11-23,修回日期:2010-02-03

细胞、冠细胞和鞘细胞构成。感觉神经元位于基部,它的树突被冠细胞与具瓣细胞及鞘细胞形成的剑鞘体所包围,其树突末端终止于冠细胞。而冠细胞与真皮相连接,所以感觉神经元可以通过特化的树突末梢感受来自刺激部位的信息^[3]。江氏器在蚊、蝇、蜜蜂等飞翔昆虫的触角中很发达,能够感受近距离的声音。雄蚊的江氏器被包在梗节形成的腔内,其中具瓣感器排列成内外两圈,还有3个具瓣感器从梗节一直延伸至鞭节(图1)^[4]。江氏器在不同种昆虫中具有不同的功能,多用于感知和控制触角的方位和活动。仅在蚊蝇等类群中才具有较发达的听觉功能。

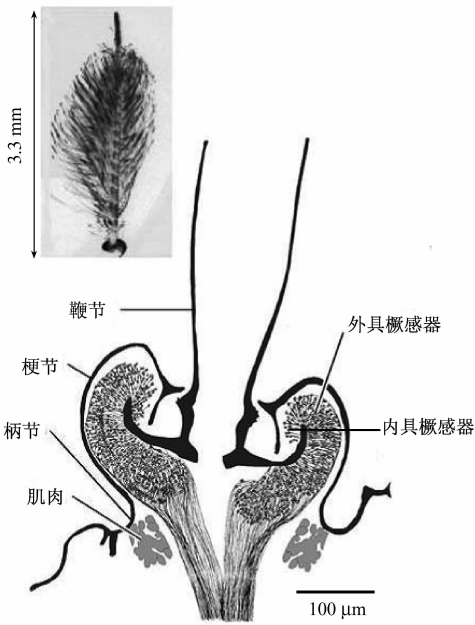


图1 雄蚊触角上的江氏器^[4]

1.3 鼓膜听器

鼓膜听器普遍存在于具有发声能力的昆虫中,特化程度很高,结构复杂,功能强大,可以感受近远场的声音,是昆虫的“耳”^[5]。昆虫的鼓膜听器由三部分构成:鼓膜,支持鼓膜的气囊或气管和位于鼓膜内侧的具瓣感器。

昆虫的鼓膜从虫体的表面就能看到,这与高等动物的鼓膜不太一样。鼓膜厚度的差异很大,从1 μm(如蝉)^[6]到40~100 μm(如沙

螽)^[7]。鼓膜面积最小的是草蛉,仅为0.02 mm²^[8],而蝉能达到4 mm²^[6]。而且鼓膜面积与虫体大小不成正比,同一鼓膜其厚度有时也并不均匀^[9]。

蝗科昆虫的鼓膜听器位于第一腹节两侧。鼓膜为半圆形,膜的大部分轻微骨化,连接具瓣感器的部位高度骨化。支持鼓膜气囊的囊壁厚度只有0.2 μm。其弦音器被称为缪勒氏器(Müller's organ),约有80个神经元,声波引起鼓膜振动,传至缪勒氏器,经缪勒氏器末端感觉纤维及其集合而成的听神经,通入后胸神经节从而感受听觉^[3]。

蟋蟀科的鼓膜听器位于前足胫节近端,外部为半透明的膜质结构,鼓膜裸露。每一前足具前后2个鼓膜,前鼓膜较小,后鼓膜较大。双斑蟋弦音器(图2)的位置较偏向于胫节的背侧,由膝下器和鼓膜器构成。鼓膜神经紧贴前气管的背侧走行。气管干由腿节进入胫节后形成一个大的气管囊,随后在鼓膜器出现后逐渐分隔成前后2个气管,在鼓膜器完全消失后两气管又重新合并成一个直径变小的气管。气管系统不仅起到阻抗的作用,更重要的是为声音到达鼓膜内表面提供了通道。蟋蟀对声源的定位,由声音直接冲击鼓膜外表面和声音经双侧前胸气孔撞击鼓膜的内表面共同决定。蟋蟀的鼓膜器没有直接连于鼓膜,而是连在气管的外

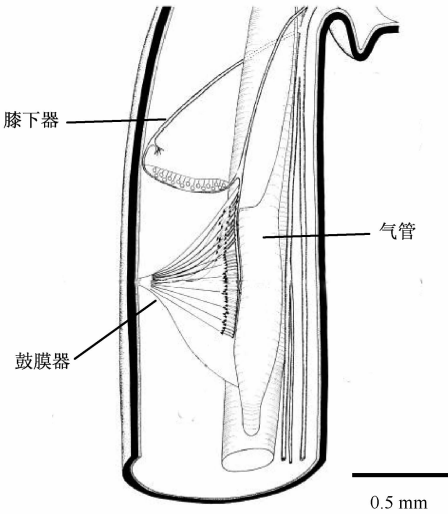


图2 双斑蟋的鼓膜听器(仿 Yager^[10])

壁上。构成鼓膜器的具概感器沿胫节的长轴方向分布。对不同部位的具概感器进行胞内电生理记录表明,远端的具概感器对高频的声音刺激敏感,而近端的具概感器主要感受低频的声音刺激^[10]。

声源定位能力是听觉系统最显著地属性之一,对于有些昆虫来说,这种能力是生死攸关的^[11~13]。例如,蛾类的“反捕猎”行为,可以聪明地躲过蝙蝠的追捕;神经解剖学研究表明,蛾类的鼓膜听器仅有2个听觉感受细胞,但是却能非常灵敏地侦听出蝙蝠的超声信号^[14,15]。

2 昆虫听器的起源和进化

现在普遍认为,昆虫纲的听器至少经历了19次独立的进化。昆虫听觉进化的原因根本上是来自环境的压力和选择。比如,一些蛾类和夜行性的直翅目昆虫为了逃避蝙蝠捕食而演化出了感受超声波的能力,现在这种超声听觉主要用于种内的声音通信。在昆虫纲中,一些物种的听觉在出现后又退化或丧失了,同时也是常常伴随着它们飞行能力的退化或丧失,这也是为了逃避蝙蝠的威胁。

关于昆虫听觉演化形成的时间问题,由于

缺乏化石证据,大部分情况并不清楚。直翅目鸣螽科 Haglidae 的听器大概出现在三叠纪,蝗虫在始新世就出现了鼓膜听器,通过分子和比较形态学研究,牛蝗科昆虫的鸣声可以追溯到侏罗纪,蝉则在古新世就具有了鼓室,双翅目的麻蝇和寄蝇的鼓膜听器却出现的较晚^[10]。

昆虫的听觉器官是由几部分共同组成的一个结构,用于传导空气中的声音,先将声音转化为机械振动进而转变成神经信号。对蛾、蝗虫、草蟋、蟑螂等昆虫的鼓膜器官的研究表明,现有的鼓膜器官都是由弦音器前体演化而来^[16~22]。除了蟑螂和舟蛾外,构成鼓膜器官的具概感器都多于弦音器前体。进化源于发育过程的变化或进化次数的改变,因此从昆虫听器发育过程变化的角度研究其进化是非常有意义的。

在昆虫听器的系统发育方面,Shaw^[23]对新翅类昆虫胫节内弦音器的结构演化进行了比较研究,认为鼓膜听器由感受地面振动的弦音器发展而来(图3)。白蚁的膝下器结构最为原始,其感觉神经元的树突与角质层的内壁相连,用于感受来自地面的振动。由于传导振动的结构不具有可伸缩的性质所以传输效率很低。与白蚁相比,蟑螂膝下器对声音和振动的传导效

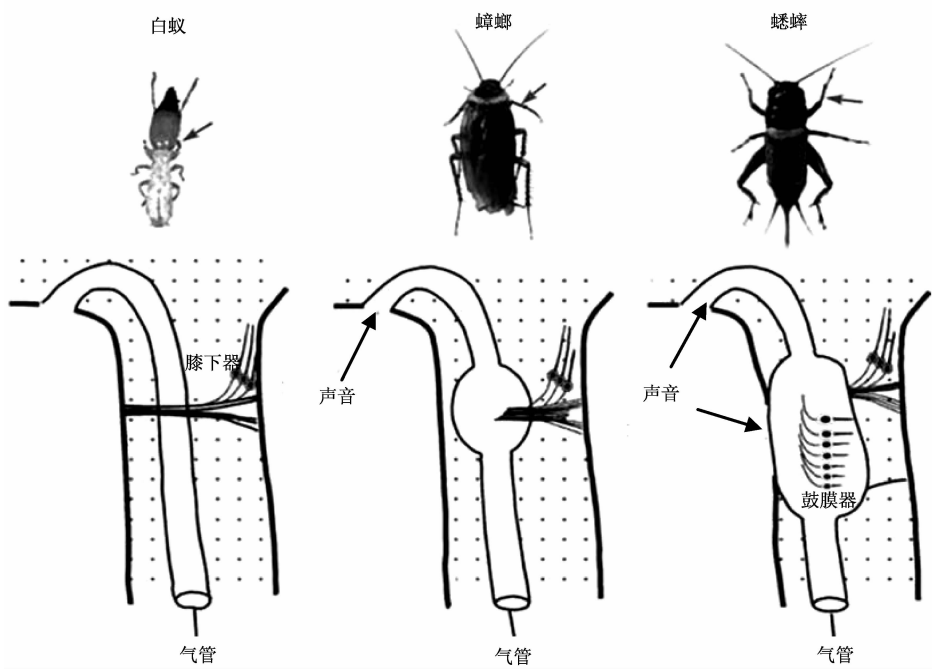


图3 膝下器到鼓膜听器的系统演化(参照 Shaw^[23])

率要高得多,感受 1.3 ~ 2.6 kHz 的低频声波刺激。其膝下器的一端通过结缔组织与可压缩的气管囊相连,另一端连于表皮。在蟋蟀中,可以看到支撑膝下器的气管囊获得了更大发展,在

囊壁的一侧出现了一组感觉神经元群,这些感觉神经元群共同组成了鼓膜器。鼓膜器主要接受经气管传导的特定高频声音刺激^[4]。

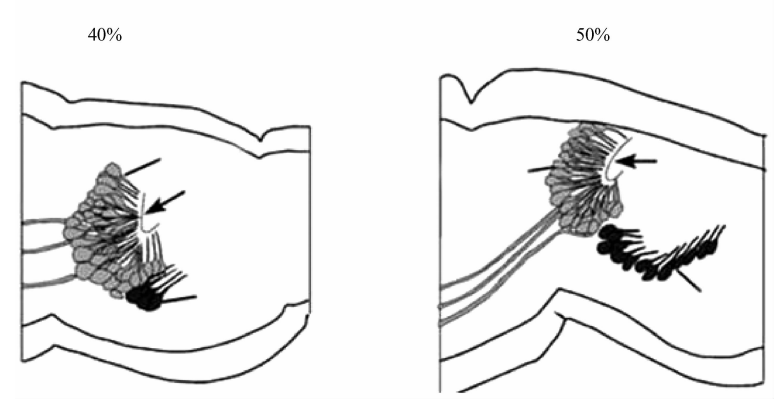


图4 草蜢鼓膜器官的个体发育过程
示草蜢鼓膜器官在胚后发育至40%和50%时,从其前足胫节观察到具概感受细胞的迁移与分化情况。(仿 Meir and Reichert^[19])

在昆虫听觉器官的个体发生过程中,可以看到与上述听觉器官系统演化相似的进程。如在草蜢鼓膜器官的胚后发育过程中,弦音器的前驱细胞先在上皮附近集结成群,然后发生内陷,形成膝下器的原基(图4 灰色细胞群)。紧接着整个细胞群在远端发生分离,鼓膜器官的原基形成(图4 黑色细胞群)。伴随着神经细胞的迁移,树突朝向也发生改变,最后树突末梢指向气管分布。随后开始进行鼓膜器官的功能分化^[19]。内陷后的感觉神经元与所附着气管发生连接是许多新翅类昆虫听觉器官进化的关键。

3 研究展望

近年来随着科学的发展,尤其是分子生物科学和仿生学的不断进步,人们对昆虫的听觉系统的研究和应用取得了很多成果。在仿生学方面,人们根据雄蚊触角专门聆听雌蚊声音的特性,研制出一种被动式声学测向仪,可用来定位雾角(在雾天警告船只的号角)信号,跟踪鱼群和帮助潜水员定向^[24]。此外还有模仿动物听觉系统制成的名为“超级耳”的窃听器^[25]和

根据昆虫声波机理制成的声音诱捕器^[1]等。模仿昆虫听觉结构,研究其对声发射、接受、听信息加工及运动调控的感觉神经生物学与神经行为学机理,可望开发出先进的“反声纳”装置^[26]。

昆虫进行听觉信息处理的神经元数目要远远小于哺乳动物,而且昆虫的听器易于解剖容易获得,所以常作为研究听觉发生、进化的动物模型。尤其是21世纪以来,由细胞信号转导带来的一系列新发现,为人们研究听觉器官的进化提供了更多有力的支持,但对听觉系统的个体发育和系统发育以及各种类群间的比较和起源进化关系等方面仍需要更为深入的研究。现在已经知道在昆虫中普遍存在着3种不同类型的听觉感受器,但是对它们之间的区别和联系认识得还不够。如听觉毛、江氏器和鼓膜听器的感觉在高级中枢的处理上有什么不同,是否都产生相同的听觉反应,有何听觉上的声学物理特性等。作者认为要解决以上这些问题,应用多学科知识和技术手段,从细胞水平、电生理水平和分子水平上进行综合性研究是非常必要的。

参 考 文 献

- 1 李孟楼. 资源昆虫学. 北京:中国林业出版社,2004. 278.
- 2 虞以新. 昆虫有“耳朵”吗. 大自然,2000,3:16.
- 3 王荫长. 昆虫生理学. 北京:中国农业出版社,2004. 231 ~ 234.
- 4 西野浩史. 昆虫の聴覚器官—その進化—. 比较生理生化学,2006,23(2):26 ~ 37.
- 5 孔祥磊,沈钧贤,杨星科. 昆虫的听觉. 见:李典谟主编,中国昆虫学会2007年学术年会论文集. 北京:中国农业科学技术出版社,2007. 159 ~ 163.
- 6 Young D. , Hill K. G. Structure and function of the auditory system of the cicada, *Cystosoma saundersii*. *J. Comp. Physiol.* , 1977, **117**(1):23 ~ 45.
- 7 Ball E. E. , Field L. H. Structure of the auditory system of the weta *Hemideina crassidens* (Blanchard, 1851) (Orthoptera, Ensifera, Gryllacridoidea, Stenopelmatidae). *J. Cell Tissue Res.* , 1981, **217**(2):321 ~ 343.
- 8 Miller L. A. Structure of the green lacwing tympanal organ (*Chrysopa carnea*, Neuroptera). *J. Morphol.* , 1970, **131**(4):359 ~ 382.
- 9 Prager J. Das mesothorakale Tympanalorgan von *Corixa punctata* Ill. (Heteroptera, Corixidae). *J. Comp. Physiol.* , 1976, **110**(1):33 ~ 50.
- 10 Yager D. D. Structure, development, and evolution of insect auditory systems. *Microsc. Res. Tech.* , 1999, **47**(6):380 ~ 400.
- 11 Fullard J. H. , Dawson J. W. , Jacobs D. S. Auditory encoding during the last moment of a moth's life. *J. Exp. Biol.* , 2003, **206**(2):281 ~ 294.
- 12 Fullard J. H. , Napoleone N. Diel flight periodicity and the evolution of auditory defences in the Macrolepidoptera. *Anim. Behav.* , 2001, **62**(2):349 ~ 368.
- 13 Schul J. , Matt F. , von Helversen O. Listening for bats:the hearing range of the bushcricket *Phaneroptera falcata* for bat echolocation calls measured in the field. *Proc. R. Soc. Lond B Biol. Sci.* , 2000, **267**(1454):1 711 ~ 1 715.
- 14 Eberl D. F. Feeling the vibes:chordotonal mechanisms in insect hearing. *Curr. Opin. Neurobiol.* , 1999, **9**(4):389 ~ 393.
- 15 Fullard J. H. Auditory sensitivity of *Hawaiian moths* (Lepidoptera: Noctuidae) and selective predation by the Hawaiian hoary bat (Chiroptera: *Lasiurus cinereus semotus*). *Proc. R. Soc. Lond B Biol. Sci.* , 2001, **268**(1474):1 375 ~ 1 380.
- 16 Boyan G. S. Another look at insect audition:the tympanic receptors as an evolutionary specialization of the chordotonal system. *J. Insect Physiol.* , 1993, **39**(3):187 ~ 200.
- 17 Edgecomb R. S. , Robert D. , Read M. P. The tympanal hearing organ of a fly: phylogenetic analysis of its morphological origins. *J. Cell Tissue Res.* , 1995, **282**(2):251 ~ 268.
- 18 Lewis F. P. , Fullard J. H. Neurometamorphosis of the ear in the gypsy moth, *Lymantria dispar*, and its homologue in the earless forest tent caterpillar moth, *Malacosoma disstria*. *J. Neurobiol.* , 1996, **31**(2):245 ~ 262.
- 19 Meier T. , Reichert H. Embryonic development and evolutionary origin of the orthopteran auditory organs. *J. Neurobiol.* , 1990, **21**(4):592 ~ 610.
- 20 Yack J. E. , Fullard J. H. The mechanoreceptive origin of insect tympanal organs:a comparative study of similar nerves in tympanate and atympanate moths. *J. Comp. Neurol.* , 1990, **300**(4):523 ~ 534.
- 21 Yack J. E. , Roots B. I. The metathoracic wing-hinge chordotonal organ of an atympanate moth, *Actias luna* Lepidoptera, Saturniidae: a light and electron microscopic study. *J. Cell Tissue Res.* , 1992, **267**(3):455 ~ 471.
- 22 Yager D. D. , Scaffidi D. J. Cockroach homolog of the mantis tympanal nerve. *Soc. Neurosci. Abstr.* , 1993, **19**:340.
- 23 Shaw S. R. Detection of airborne sound by a cockroach “vibration detector”: a possible missing link in insect auditory evolution. *J. Exp. Biol.* , 1994, **193**(1):13 ~ 47.
- 24 王书荣. 自然的启示. 上海:上海科学技术出版社,1978. 122.
- 25 杜家纬. 仿生梦幻. 郑州:河南科学技术出版社,2000. 160.
- 26 伍一军,陈瑞,李薇. 昆虫仿生. 昆虫知识,2005,42(1):110.

利用畜禽粪便饲养家蝇的技术及应用^{*}

王 芳 朱 芬 雷朝亮^{**}

(华中农业大学植物科学技术学院 湖北省昆虫资源利用与害虫可持续治理重点实验室 武汉 430070)

Animal manure breeds housefly and its application. WANG Fang, ZHU Fen, LEI Chao-Liang^{**} (*Hubei Insect Resources Utilization and Sustainable Pest Management Key Laboratory, College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China*)

Abstract Pollution from manure and lack of protein in the diet are the two outstanding issues in animal husbandry. In recent years, progress has been made in using fly larvae to decompose manure and as a diet for livestock. The theory and technique of using livestock manure to breed fly larvae is summarized, and the use of fly larvae as a feed for livestock and residual manure as organic fertilizer are discussed.

Key words fly larvae, manure, breeding, density, condition, application

摘 要 随着畜牧业的发展,粪便的污染和蛋白饲料的缺乏已成为养殖业中急待解决的两个突出问题。近些年来,利用蝇蛆转化畜禽粪便,蝇蛆作为饲料来养殖禽畜的技术渐趋成熟。文章归纳并综述了利用禽畜粪便养殖蝇蛆的理论和技巧,对蝇蛆饲料和蛆粪有机肥的应用和效果做了简要的阐述。

关键词 蝇蛆, 粪便, 饲养, 密度, 条件, 应用

随着世界人口的急剧增长和生活水平的提高,资源、环境和生态问题已经成为世界各国经济社会发展中最紧迫的问题。据中国农业科学院有关专家分析,到2010年我国蛋白质饲料的供需缺口为3 800万吨^[1]。我国禽畜养殖业的污染问题日趋严重,国家环保总局提出,解决禽畜养殖业污染的根本在于发展生态循环性养殖业。运用生态学原理,构建腐生生物链是解决上述问题最科学合理的途径。蝇蛆以分解动植物遗体和排泄物为生,是大自然的天然清洁工,而本身又是一种高品质动物饲料。因此,利用禽畜粪便饲养蝇蛆,再将蝇蛆作为饲料喂养禽畜可形成生态农业,并产生循环经济效益。

对于蝇类利用的研究,Lindner 早在1919年就证明了利用家蝇幼虫从废弃物中提取蛋白质和脂肪的可行性,但深入研究的极少。直到20世纪60年代,利用蝇蛆转化动物粪便以获得优质蛋白饲料的基础研究才相继开始^[2~8]。国内对于蝇类利用的研究较晚,1979年北京市畜牧局首先介绍了朝鲜用鸡粪产蛆作为蛋白饲料的情况,随后多家单位开展了利用禽畜粪便

饲养蝇蛆并喂养禽畜的效果实验^[9]。本文就利用蝇蛆转化粪便生产饲料及有机肥的相关技术进行了归纳和总结。

1 优良蝇种的选择和获取

合理选择蝇种,在饲养条件相同的情况下可以获得更好的效益。选择蝇种的基本原则是:蝇种繁殖力强,蛆体肥大产量高,食性杂等。

目前,家蝇 *Musca domestica* 的研究最为深入和系统,是最主要的养殖蝇种之一。其具备繁殖能力强,产卵量高,蛆体肥大,食性杂,适应能力强等优点。在养殖过程中,应注意淘汰腐蝇和少毛厕蝇,即大家蝇 *Muscina stabulans* 和小家蝇 *Fannia canicularis*。

近些年来,许多苍蝇养殖公司大力推广以

^{*} 资助项目:国家科技基础条件平台建设专项子项目“经济昆虫种质资源标准化整理、整合及共享试点”(2005DKA21105)。

^{**} 通讯作者, E-mail: ioir@mail. hzau. edu. cn

收稿日期:2009-09-28,修回日期:2009-11-17

红头苍蝇作为蝇种的技术,其实红头苍蝇就是由野生苍蝇中的丝光绿蝇 *Lucillia sericata* 驯化而来。此蝇种蛋白质含量高,蝇体较家蝇大,喜食腥臭腐败的鱼和河蚌类。养殖场所靠水库,有腐败的鱼类作饲料,即可养殖此蝇种。其蛆体肥大,蛋白质含量高,养殖效益好。

此外,麻蝇科的不少种亦可作为养殖蝇种。其成蝇体大,繁殖力强,多在室外垃圾堆中活动,胎生,不产卵,直接产幼虫,孳生在动物尸体和腐肉伤口中。在饲养过程中,只需提供腐肉或动物尸体,即可获得较高的产量和效益。

优良蝇种的获得主要有2种方式:引进驯化种和驯化野生种。目前,国内许多研究机构和养殖公司均有驯化蝇种出售,可直接购买引进优良蝇种。驯化野生种则是从野外获得某个虫态,再在室内繁殖数代,即可作为养殖种。后文将以家蝇为例,对其养殖技术和应用进行阐述。

2 成蝇的饲养

成蝇是蝇类生活史中唯一具有生殖能力的虫态,人工饲养成蝇的目的是让其产卵以维持种群的稳定;因此,成蝇的生长状况直接决定下一代的质量。

2.1 成蝇饵料

养好成蝇必须满足蛋白质饲料和能量饲料的供应,蛋白质饲料的满足与否直接影响雌蝇卵巢的发育和雄蝇的质量,能量饲料提供维持家蝇生长和新陈代谢作用的需要^[9]。常用的成蝇饲料配方有^[10]:

- (1)奶粉 50% + 红糖 50% ;
- (2)鱼粉糊 50% + 白糖 30% + 糖化发酵麦麸 20% ;
- (3)蛆粉糊 50% + 酒糟 30% + 米糠 20% ;
- (4)蛆浆糊 70% + 麦麸 25% + 啤酒酵母 5% + 蛋氨酸 90 mg ;
- (5)蚯蚓糊 60% + 糖化玉米糊 40% ;
- (6)糖化玉米糊 80% + 蛆浆糊 20% ^[10]。

在实际养殖过程中,由于奶粉、红糖等的较高成本,常用蛆浆糊和糖化面粉糊代替。糖化

面粉糊是将面粉与水按 1:7 的比例加热煮成糊状,再加入 10% “糖化曲”,置 60℃ 中糖化 8 h 即成。此种饲料喂养成蝇,饲养效果好,成本低。饵料的投放量应控制在当天吃完为准^[11]。

2.2 饲养条件

成蝇的生长发育和繁殖与周围环境条件的关系及其密切,其主要的环境因素包括:温度、光照和湿度等。

人工饲养成蝇的目的是为了在一定的时期内获得较多的卵,并使产卵量维持在相对稳定的水平。采用正交旋转组合设计方法建立影响种蝇卵量的多目标因子作用模型,证明了成蝇饲养室温度是影响种群产卵历期的主因子^[12]。陈文龙等报道了成蝇的最适产卵温度是 24℃,产卵温域为 12.5 ~ 35.3℃^[13]。

此外,光照和湿度也是影响成蝇生长的重要因素。成蝇具有较强的趋光性,只有在光照条件下才取食、交尾和产卵。鲁汉平和钟昌珍建立了影响种蝇卵量的多目标因子作用模型,证明了光照对成蝇种群卵量和产卵历期有显著影响^[12]。成蝇对湿度的要求较低,但过于干燥或潮湿将影响空气质量,间接影响成蝇的生长发育。

鲁汉平和钟昌珍报道了利用数学模型来筛选成蝇饲养的优化方案^[14]。笔者认为,综合考虑养殖成本和产卵量之间的关系,成蝇的饲养条件可设定为:温度 24 ~ 33℃,湿度 50% ~ 80%,自然光照。

2.3 饲养密度

人工养殖成蝇应最大限度地利用养殖空间,以达到高产的目的。但由于受环境、季节、房舍和养殖工具等条件因素的影响,养殖密度应保持在一定的范围内。实验表明,笼养以 8 ~ 10 万只/m³ 为宜;房养成蝇则为 2 万只/m³,夏季高温季节应降至 1 万只/m³,若房舍通风降温设施较完善,可适当增大密度。如果饲养密度过大则会导致摄食面积不足,空气质量下降,甚至影响成蝇的正常生长发育。

2.4 饲养方式与设备

目前国内成蝇的养殖方式主要有笼养和房

养 2 种。这 2 种养殖方式各有所长,笼养隔离较好,比较卫生,能够创造适宜的饲养环境,但空间利用效率不高。房养则可以提高空间利用率,并且设备简单,省工省本,比较适合大规模连续生产,但是不便于管理,成蝇易于逃逸。

2.4.1 笼养 笼养成蝇所需的设备比较简单,主要有:成蝇笼、饲料盘、饮水器、羽化缸和产卵罐等。

(1)成蝇笼 蝇笼的大小没有固定的规格,可根据饲养规模和空间大小来确定。例如,可用蚊帐纱、尼龙纱或窗纱等缝制成 $50\text{ cm} \times 50\text{ cm} \times 50\text{ cm}$ 规格的笼子,再将笼子固定于木架或铁架上。在笼子的一侧开一个直径 20 cm 左右的圆孔,将一布筒缝在圆孔上,以便喂食和其它操作。

(2)饲料盘 可作为饲料盘的容器很多,例如:玻璃器皿、瓷盘、塑料碟、小碗等,饲料盘用于盛放成蝇饲料以供成蝇取食。根据养殖规模确保平均每 $1\ 000$ 只成蝇的采食面积在 40 cm^2 以上。

(3)饮水器 蝇笼内放置浅口的碟或碗作为饮水器,饮水器中放一块吸水性强的海绵供成蝇停留饮水。但是,这种笼内喂水的方式存在缺点:一是成蝇在饮水时还伴随着排泄,容易造成污染;二是笼内湿度大,环境差,不利于蝇的生长发育;三是成蝇易掉入水中淹死。以上问题可以通过笼外喂水的方式解决,具体方法是:向一深口容器中注入清洁的水,再在容器口上固定一块白纱布,纱布一定要绷紧,迅速将容器翻转,水由于虹吸作用而不会滴漏出来,最后将容器倒置于笼顶,成蝇即可用口器穿过笼壁和纱布喝到水。

(4)羽化缸 羽化缸是用来盛放蝇蛹的容器,没有严格的要求,一般的瓷碗、铁盒、木盒、纸盒等均可。

(5)产卵罐 家蝇雌虫在自然条件下常将卵产于各种缝隙或者疏松的基质中,人工饲养家蝇常采用产卵罐收集卵。雌蝇几乎不在罐壁透明的集卵罐中产卵,对不同高度壁不透明的集卵罐在相同时间所收集的卵量进行比较表

明:高度为 10 cm 的集卵罐中产卵最多,高度在 6 cm 以下的集卵罐产卵较少。在集卵罐中放入不同厚度产卵基质的结果表明:产卵基质的厚度对产卵影响不大,但雌蝇主要将卵产于基质表面下 $1 \sim 2\text{ cm}$ 深度范围,因此集卵罐中产卵基质的厚度不应低于 2 cm ,以 $2 \sim 3\text{ cm}$ 为宜^[15]。可用于诱集成蝇产卵的基质主要有:麸皮、鸡粪、猪粪和米糠。麸皮是比较稳定可靠的优良产卵基质,但成本较高;鸡粪诱集成蝇产卵的成本低,其效率受多个因素的影响,但是新鲜笼养雏鸡粪作产卵基质的效果比麸皮还要强。对不同含水量产卵基质中卵的发育调查结果表明:基质含水量为 60% 时,卵期最短为 18.67 h ,卵的孵化率最高为 97.33% ,而含水量低于 30% 或高于 80% 的孵化率都很低^[15]。

2.4.2 房养 蝇房应选择阳光充足,通风条件较好的房间,南北朝向最好。北面为封闭式的走道,中间为操作间,前后开门。蝇房的北面开门,由工作间后门通向走道进入,南面留窗,设纱门、纱窗、排风扇。此种蝇房背面的走道可以有效地阻止成蝇外逃,冬季还可缓解北风侵袭,有利于保持室温。房养成蝇的饲养量比同条件下笼养成蝇的饲养量高 33.7% ,能够更有效地利用空间。房养成蝇所需的饲料盘、饮水器、羽化缸和产卵罐等可与笼养相同。

3 蝇蛆的饲养

蝇蛆可以直接转化粪便,而自身又可作为优质的蛋白饲料,所以蝇蛆的养殖是最重要和核心的部分。

3.1 蝇蛆饵料

牛、马、猪、鸡和鸭等粪便经简单发酵后均可用来养殖蝇蛆。饲养蝇蛆所用禽畜粪便以新鲜的为好。用于养殖蝇蛆的粪便湿度保持在 $65\% \sim 70\%$ 比较适宜,若湿度过大可掺入麦麸、米糠或木屑调节。暂时不用的粪便应贮藏于粪池中备用,并掩盖严实以防蝇类和其它食粪昆虫孳生繁殖。饲养蝇蛆的粪便可以是单一的也可以是 2 种或多种粪便及其它物质的混合。常见的混合配比方案有^[16]:

(1)新鲜猪粪(3 d 以内)70% + 鸡粪(一星期以内)30% ;

(2)屠宰场新鲜猪粪 100% ;

(3)猪粪 75% + 豆腐渣 25% ;

(4)鸡粪 50% + 猪粪 25% + 豆腐渣 25% ;

(5)麦麸 70% + 鸡粪 30% ;

(6)麦麸 70% + 猪粪 30% ;

(7)麦麸 80% + 人粪 20% 。

饲养基质混合均匀后可加入 0.1% ~ 0.5% 的 EM 菌堆好,盖上塑料薄膜,发酵 24 ~ 48 h。用石灰或稀盐酸调节 pH 至 6.5 ~ 7 后即可使用。混合好的培养基质接种蝇卵后即可进行饲养,培养基质的厚度保持在 7 ~ 10 cm,表面可高低不平,以利于通气。吴建伟等报道了猪粪饲养蝇蛆的营养成分比麦麸饲养蝇蛆的营养成分更接近参考蛋白模式,营养价值优于鱼粉^[17]。

3.2 饲养条件

在蝇蛆的饲养过程中,与其生长发育相关的环境因素主要包括:温度、湿度和光照等。

温度的高低直接决定蝇蛆发育历期的长短,培养基质的温度为 16℃ 时,发育期为 17 ~ 19 d;当温度升至 34℃ 时,发育期缩短为 3 ~ 3.5 d。胡广业和张文忠报道了温度是影响蝇蛆发育的主要因子,其生存范围为 12 ~ 46℃;温度超过 35℃ 时,其发育期不再缩短^[18]。

培养基质含水量是影响蝇蛆生长的又一重要因素。当培养基质含水量在 50% ~ 80% 范围内时,蝇蛆均可存活并能发育至化蛹。培养基质过干,则因不利于其对营养的吸收和利用而个体瘦小;培养基质过湿,基质中氧气不足有碍其呼吸代谢,同样对其生长不利。雷朝亮等报道了培养基质不同含水量对蝇蛆体重的影响,含水量为 60% 的蝇蛆体重最大,并且在 50% ~ 70% 之间蝇蛆体重差异不显著^[19]。

蝇蛆具有负趋光性,当暴露在自然光或灯光下时,其表现出焦躁不安,不停地爬动以寻找躲避之处。因此,人工饲养蝇蛆应进行遮光处理。

综合多个因素对蝇蛆生长的影响,其饲养

条件应设定为:温度 30 ~ 35℃,湿度 65% ~ 70%,并进行简要的遮光处理。

3.3 饲养密度

蝇蛆是耐高密度饲养的种群。但其密度仍要保持适当,如果密度过低,剩余饲料将结块或发霉;若密度过高,导致过分拥挤和营养不足,容易逃逸和死亡,得到的蛹也较小。蝇蛆的饲养密度因培养基质不同而存在差异,保持适当饲养密度的接种方法为:将培养基以每平方米养殖池面积 40 ~ 50 kg 的量倒入饲养池中,1 m²养殖池面积接种蝇卵 20 ~ 25 g,约 1 ~ 2 万只成蝇一天所产的卵。实验表明:猪粪为主体的培养基质的最适饲养密度要高于以鸡粪为主体的培养基质^[9]。

3.4 饲养设备

常见的水缸、箱子、盒子、盘子和池子等均可用于养蛆。缸养宜选用口径较大的水缸,上面必须加盖,此方法适于小规模饲养。箱养、盒养和盘养可根据实际情况选择不同材料的容器,木板、胶合板、纤维板、镀锌铁皮等均可用于制作饲养容器,也可用市售的塑料盘等。大小规格根据饲养规模,并且操作方便为宜。为了充分利用空间,减少占地面积,可以制作多层饲养架。池养则是用砖头砌成高约为 40 cm,面积适当的池子,中间设人行过道,便于操作管理,此方法适合于大规模饲养。其它必备的用具包括:铁铲、水桶、温度计、湿度计和普通脸盆等。如果要满足全年饲养的需要,还应备有保温保湿设备。

3.5 分离蝇蛆

在适宜的条件下大约饲养 4 d,蝇蛆体色开始变为微黄,这一转化标志着蝇蛆已经成熟。留作种蝇的幼虫需继续饲养直至化蛹,其余的则需分离备用。目前,报道的蝇蛆分离技术有多种,总结起来都是利用了蝇蛆的负趋光性、向下性和趋干性等生物学习性。

3.5.1 强光照射法 由于蝇蛆具有负趋光性,用强光照射蝇蛆会自动钻入培养基质,刮去表层不含蝇蛆的培养基质;如此反复的光照和层层剥去培养基质,最后在底层可获得培养基质

低于 1% 的蝇蛆。

3.5.2 水分分离法 将待分离的蛆料倒入水中,经不停的搅拌直至蝇蛆漂浮于水面上,再用筛子等工具将蝇蛆捞出。

3.5.3 桶分离法 成熟的蝇蛆具有自动从培养基质中爬出,寻找适宜化蛹场所的特性。因此可在饲养池的角上放置收蛆桶,桶口略高于基质表面并成一定的坡度,爬出来的蝇蛆则会掉入桶中而与基质分离。

3.5.4 蝇蛆分离器 Calvert 发明了一种从鸡粪中分离蝇蛆的专利产品——蝇蛆分离器。该分离器由上下两分离室组成,上室顶部为一白炽灯,底部为 1/8 目网筛,白炽灯开启后,蝇蛆向下移动穿过网筛掉入下室;下室中放有一玻璃纤维筛,有些粪粒会随蝇蛆掉至此筛上,但此筛很柔软,蝇蛆会继续往下移动而掉入下室的底部,从而达到彻底分离的目的^[9]。近些年来,国内也陆续出现了许多蛆粪分离的专利^[20,21]。

3.5.5 蛆粪分离机 在国内,钱松田和甘茂云设计了蝇蛆与粪便分离的机器设备,该设备仍是利用了其负趋光性的特性。晴天将分离箱放置室外,蛆粪平铺于上筛网,经阳光照射,驱使蛆钻过上筛网落至下筛网。当蛆基本上钻过上筛网后即可取去上筛,因上筛孔较大,少量培养基随蛆一起落到下筛网,再经下筛网分离即可收集到较干净的鲜蛆。阴雨天则可用灯光照射,同样可取得较满意的效果。在此分离箱的基础上进行改进设计出的分离机采用 2 种光照形式进行工作,此设备还可以连续使用^[22]。

3.6 转化效率

整个取食期,蝇蛆能够消耗相当于其最后体重 10 倍的食物,其消化道长度是体长的 7 倍。30℃ 时,大约 20 min 后蝇蛆既可将消化过的食物排出^[9]。吴建伟等报道了猪粪饲养蝇蛆的转化效率为每公斤猪粪平均可产 0.13 ~ 0.20 kg 鲜蛆^[17]。采用营养价值更高的鸡粪饲养蝇蛆的转化效率可达到 20% ~ 25%。

4 蝇蛆的饲用

分离得到的鲜蛆可直接喂鸡、鸭、鹌鹑、观

赏鸟类、牛蛙、蝎子、特种鱼、对虾、鳙鱼、貂、蛤蚧等。鲜蛆的含水量高达 75% ~ 80%,不易保存,因此若需存放待用或作为商品出售,则必须经过干燥处理。鲜蛆蛋白和水分含量高,烘干时极易粘结、烧焦,加入一定量的砂子并不停的翻动,可以克服此问题,但工作环境恶劣。为了改善工作环境并提高热效率和工作效率,钱松云和甘茂云设计了用孔板制成的滚筒式干燥实验装置。该装置工作时转动滚筒使蛆在滚筒内翻动,热空气经孔板进入滚筒,蒸发出的水蒸气则由抽风机带走排出。干燥时,前半小时内应控制在 80℃ 左右,以后逐渐升高温度,但不可超过 120℃,经过 45 min 的干燥即可将含水量降至 14% 以内^[22]。

4.1 蝇蛆的营养价值

蝇蛆是理想的动物源蛋白饲料,其营养成分十分全面,营养价值非常高,主要体现在以下 5 个方面。第一,粗蛋白含量非常高。国内外众多分析资料表明:无论是鲜蛆还是蛆粉的粗蛋白含量都与鲜鱼、鱼粉和肉骨粉相当或略高。第二,必需氨基酸含量高。世界卫生组织(WHO)及联合国粮农组织(FAO)提出的参考蛋白模式为必需氨基酸占总氨基酸的 40% 以上,对蝇蛆的氨基酸组分分析表明:蝇蛆原物质与蝇蛆干粉的必需氨基酸比率分别为 44.09% 和 43.83%,均超过了 WHO 和 FAO 的标准,并远远高于鱼粉的 33.61%^[23]。第三,微量元素丰富。蝇蛆体内除含有丰富的钾、钠、钙、镁等无机元素外,还含有多种生命活动所必需的微量元素,如:铁、铜、锌、锰、磷、钴、铬、硒、硼等 20 种微量元素^[23]。第四,脂肪含量和质量高。牛长缨等分析蝇蛆油发现:其中含有二十余种脂肪酸,饱和和脂肪酸占 64.5%,包括油酸、亚油酸和亚麻酸等,还发现含有十五碳酸和十七碳酸等不多见的奇数碳原子脂肪酸,其中人体必需的亚油酸和亚麻酸含量超过鱼脂而与花生油脂相近^[9]。第五,B 族维生素含量高。雷朝亮测定蝇蛆粉中维生素的含量发现:其维生素 B₁ 和 B₂ 的含量非常丰富,B₁ 含量为 1.95 mg/100 g,B₂ 为 282.87 mg/100 g,蝇蛆粉中 B₂ 含

量是一般食物含量的 100 倍至 1 000 倍^[9]。

4.2 鲜蛆的饲喂效果

鲜蛆可直接作为饵料,用于畜禽、鱼类的幼体阶段和喜食活饵料的动物。鲜蛆能在水中存活 24 ~ 48 h,以鲜蛆作为水产动物鲜活饵料的饲养效果很好,可取得良好的经济效益。周永富等报道了蝇蛆饲喂稚鳖的效果,结果表明:在一个月的饲养期内,喂蝇蛆的稚鳖平均每只增重 4.53 g,平均增重率为 160.27%;喂熟鸡蛋黄的对比组稚鳖平均每只增重 1.2 g,平均增重率为 42.61%;此外,以蝇蛆喂稚鳖的生长发育更加整齐^[24]。天津蓟县科委测试了鲜蛆喂蛋鸡的饲养效果:在 110 d 的试验期内,实验组产蛋数比对照组多 322 枚,增重 23.3 kg,产蛋率提高 10.1%,每公斤蛋耗料减少 0.44 kg,平均每 1.4 kg 鲜蛆可增产 1 kg 鸡蛋,经济效益十分可观^[9]。

4.3 干蛆粉的饲喂效果

目前,最常用的蛋白饲料为秘鲁鱼粉,大量的饲养测试表明用干蛆粉代替秘鲁鱼粉具有良好的效果。用干蛆粉取代秘鲁鱼粉喂养 1 龄草鱼的结果表明:经过 35 d 的对比饲养试验,蛆粉组增重 92.5%,鱼粉组增重 71.7%,蛆粉组比鱼粉组高 20.8%;蛆粉组蛋白质效率为 52.73%,比鱼粉组的 36.29% 高 16.4%;蛆粉组饵料系数为 1.65,比鱼粉组的 2.11 低 0.46^[25]。黄自占等对小猪进行了干蛆粉饲养效果测试,在基础日粮中分别添加秘鲁鱼粉或蝇蛆粉 25 g 饲喂小猪,60 d 后的试验结果表明:蛆粉组比鱼粉组平均增重 7.2%,饲养成本则降低了 13.2%^[26]。以同样的方法对大猪进行饲养试验,一个月后的结果显示:添加蝇蛆粉组的大猪增重是对照组的 6 倍,其经济效益十分可观^[9]。原湖南农学院(现湖南农业大学)曾用蛆粉代替等量鱼粉饲养 43 日龄仔鸡,35 d 饲养后的结果显示:蛆粉组的增重率比对照组高 7.93%,饲料报酬高 0.53%^[9]。另外,董魁和刘天龙报道了蛆粉作为生猪快速生长剂可取得理想的育肥效果^[27]。

此外,用蝇蛆饲养对虾、蝎子、鹌鹑、牛蛙、

水貂、鳙鱼等都有报道,并取得了明显的经济效益。综上所述,蝇蛆在作为畜禽和鱼类的饲料方面,特别是对于畜禽和鱼类的幼体阶段(如幼鱼、雏鸡等)及其它经济动物,蝇蛆具有其它饲料难以比拟的优势。

5 蝇蛆养殖废弃物作为有机肥的应用

分离蝇蛆后剩余的蛆粪蓬松、无臭味、不再招引苍蝇,是优良的生物有机肥料。蛆粪可作为有机肥直接应用于农业或花卉等生产行业,对于暂时不用的蛆粪则可通过晒干或烘干等方法来储存备用。

蛆粪作为肥料可使土壤摆脱使用化肥带来的板结、团粒结构退化等问题,提高了土壤肥力。蛆粪的成分化验结果为:有机质 19.8%,全氮 2.3%,全磷 2.65%,全钾 1.83%,氮、磷、钾比较均衡,是各种蔬菜瓜果和花卉的理想有机肥^[10]。

据俄罗斯方面的报道,1 吨猪粪经蝇蛆处理后得到 500 kg 蛆粪,1 公顷土地施用 20 吨蛆粪与施用全套化肥相比,燕麦增产 20%,燕麦和豆类套种增产 18%;施磷、钾化肥加蛆粪的燕麦和豆类套种具有惊人的增产效果,比施全套化肥增产 68%,比单施磷、钾化肥增产 96%。

另据日本菲尔德公司试验,蛆粪肥效长、无臭味、土壤改良效果明显,能克服连作障碍和防止土壤酸化;施用蛆粪的作物具有生长健壮、根系发达、发病少、落花果少,结实增加,果实品质优良等优点。蛆粪用于番茄、甜瓜、甜椒、茄子的肥效试验表明:果实的产量增加了 150% 以上,甜度增加,货架期也有所延长^[10]。

6 小结与展望

蝇蛆转化粪便的技术已经成熟,并拥有巨大的应用前景。养殖业中产生的禽畜粪便通过蝇蛆进行转化,蝇蛆又作为饲料应用于禽畜的养殖,由此形成良好的能源和经济循环。粪便经蝇蛆转化后重量大约减轻一半,同时可得到高达鲜粪重量 20% 的蝇蛆饲料,其转化效率非

常高。蝇蛆作为饲料具有非常好的效果,其营养成分全面,营养价值高,大量的饲用实验表明:鲜蛆及蛆粉直接添加或代替鱼粉添加到饲料中均具有良好的效果。此外,蛆粪作为理想的生物有机肥也具有很好的效果,蛆粪的肥效长,能够防止土壤酸化,克服土壤板结、退化和连作障碍等问题,拥有众多化肥无可比拟的优点。施用蛆粪的作物生长状况更好,果实的品质和产量也更高。

随着养殖业集约化程度的提高,高效养殖业造成的环境污染问题越来越受到人们的重视。一方面,养殖业集中的大量粪便污水难以就地消纳,堆弃积累使粪便中未被消化的有机物、微量矿质元素及药物、添加剂等变成有害物质,严重污染环境。另一方面,由于添加剂及药物的广泛使用,使得粪污中成分种类繁多,其中的重金属最令人担心。虽然通过营养途径可在一定范围内减少禽畜粪污的排出量及有机污染物的含量,但不能从根本上解决其污染问题,因此粪污的处理势在必行。利用蝇蛆转化粪便不仅可以大大的降低污染,还可以回收利用禽畜残余物中的粗脂肪和粗蛋白,蝇蛆作为饲料形成禽畜养殖的循环经济,同时使禽畜粪便变成了再次利用资源,用于蝇蛆养殖和生物有机肥的生产。综上所述,利用蝇蛆转化粪便不但净化了环境,形成了环保型养殖,还开辟了新的蛋白质资源,推动了养殖业的发展,促进了农业的生态循环。

利用蝇蛆转化粪便很好的解决了禽畜养殖业中环境污染和饲料短缺的问题。但是由于种种原因,目前蝇蛆的养殖只限于一些科研机构或高校作为研究用途,尽管有些企业形成了规模化养殖,但其产品作为饲料利用的部分却十分有限。因此,还需加大开发蝇蛆资源的力度,通过扶持一批蝇蛆养殖企业,使蝇蛆养殖规模化、产业化,以促进该产业的快速发展。同时,要大力开发技术含量高、附加值高的蝇蛆产品,特别是对蝇蛆抗菌肽、壳聚糖及其深加工的研究,要充分发挥高校和科研机构的人才优势,使蝇蛆产品迅速广泛地应用于生产实践中。

参 考 文 献

- 1 刘君,田河,陈昆,等. 蝇蛆作为饲料资源及其生物活性物质作用效果的研究进展. 上海畜牧兽医通讯,2008,6:19~21.
- 2 Rocksfein N. Lieberman H. M. A life table for the common housefly, *Musca domestica*. *Geronfologia*, 1959, 3(1):23~36.
- 3 Elivin C. Relationship between temperature and rate of ovarian development in the housefly, *Musca domestica* (Diptera:Muscidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 1984, 77(1):55~60.
- 4 Teotia J. S., Miller B. F. Fly pupae a dietary ingredient for starting chicks. *Poult. Sci.*, 1973, 52:1 830~1 835.
- 5 Teotia J. S., Miller B. F. Nutritive Content of fly pupae and mature residue. *Poult. Sci.*, 1974, (15):177~182.
- 6 Calvert C. C., Martin N., Morgan N. D. Housefly pupae as food for poultry. *Econ. Entomol.*, 1969, 62:938~939.
- 7 Calvert C. C., Morgan N., Martin R. D. Housefly Larvae: biodegradation of hen excreta to useful products. *Poult. Sci.*, 1970, 49:588~589.
- 8 Pickens L. G. A new larval diet for *Musca domestica* L. *J. Med. Entomol.*, 1983, 20(5):572~573.
- 9 雷朝亮. 家蝇的利用研究. 武汉:武汉大学出版社, 1999. 85~132.
- 10 何凤琴. 蝇蛆养殖与利用技术. 北京:金盾出版社, 2008. 30~63.
- 11 雷朝亮,王健,吴国华. 蝇蛆的饲养技术. 养殖与饲料, 2002,2:50~51.
- 12 鲁汉平,钟昌珍. 蝇蛆养殖技术的研究 I. 影响成蝇卵量的因子作用模型. 华中农业大学学报,1993,12(3):231~236.
- 13 陈文龙,吴菊芳,仇书红,等. 饲料、温度及成蝇密度对家蝇产卵量的影响. 上海农学院学报,1996,14(1):17~21.
- 14 鲁汉平,钟昌珍. 蝇蛆养殖技术的研究 III. 养殖技术的模拟优化及决策分析. 华中农业大学学报,1995,14(1):43~49.
- 15 魏永平,聂晓尼. 家蝇种群产卵规律及基质含水量对卵发育的影响. 西北农业学报,2000,9(2):71~74.
- 16 农业致富网. 蝇蛆的养殖技术,2009. <http://www.lyingo.com/index.htm>.
- 17 吴建伟,陈美,彭文峰. 猪粪饲养家蝇幼虫的营养成分研究. 贵阳医学院学报,2001,26(5):377~379.
- 18 胡广业,张文忠. 不同生态条件下家蝇生存力与繁殖力的测试. 生态学报,1988,8(4):330~335.
- 19 雷朝亮,钟昌珍,宗良炳,等. 食物不同含水量对家蝇生长发育的影响. 华中农业大学学报,1993,12(4):339~342.
- 20 雷朝亮,宗良炳,钟昌珍. 蝇蛆工厂化养殖方法及设备. 中

国专利,CN1142887. 1997-02-19.

21 戴网成,沈晓昆. 畜禽粪便养殖蝇蛆的蝇蛆收集设备. 中国专利,CN2669598. 2005-01-12.

22 钱松云,甘茂云. 蝇蛆繁殖与设备. 农牧与食品机械, 1992,2:23~26.

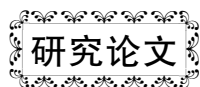
23 王达瑞,张文霞,陆源,等. 家蝇幼虫营养成分的分析与利用. 昆虫知识,1991,28(4):247~249.

24 周永富,饶军华,阳建春,等. 家蝇饲养技术研究及蝇蛆在
蟹养殖中的应用. 昆虫天敌,1997,19(4):161~164.

25 黄自占,陆达元,张乃仲. 蝇蛆养殖与利用. 医学动物防制,1988,4(3):93~110.

26 黄自占,张乃仲,陆达元. 开发蛋白质饲料新来源——人工养殖蝇蛆. 饲料研究,1984,(3):17~21.

27 董魁,刘天龙. 蛆粉可做生猪快速生长剂. 农村实用工程技术,1998,6:17.



八字地老虎和粘虫蜕皮激素接受子 3 (HR3) 基因 cDNA 序列的克隆与序列分析*

吴丽梅** 韩岚岚 刘健 樊东***

(东北农业大学农学院 哈尔滨 150030)

Molecular cloning and sequences analysis of molt hormone receptor 3 (HR3) cDNA from *Agrotis c-nigrum* and *Mythimna separata*. WU Li-Mei**, HAN Lan-Lan, LIU Jian, FAN Dong*** (Agricultural College, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract Insect molt hormone receptor 3 (HR3) is a molt-regulating transcription factor that plays an important role in regulating insect molt. Total RNA was isolated from the prepupae of *Agrotis c-nigrum* L. and *Mythimna separata* Walker. The cDNA sequences were cloned by RT-PCR and rapid amplification of cDNA ends (RACE). The cDNA sequence of *A. c-nigrum* HR3 was 1 729 base pairs in length and contained an open reading frame of 1 533 base pairs coding for a polypeptide of 510 amino acid residues with a predicted molecular weight of 57.5 ku. The cDNA sequence of *M. separate* HR3 was 1 743 base pairs in length and contained an open reading frame of 1 536 base pairs coding for a polypeptide of 511 amino acid residues with a predicted molecular weight of 57.9 ku. The predicted protein of both insects had the characteristics of the nuclear receptor superfamily and shared extensive similarities with those from other insects, especially the Lepidoptera. The cDNA sequences have been deposited in GenBank with accession numbers GU188853 for *A. c-nigrum* HR3 and GU188854 for *M. separata* HR3.

Key words *Agrotis c-nigrum*, *Mythimna separata*, hormone receptor 3 (HR3), molecular cloning, sequence analysis

摘 要 蜕皮激素接受子 3 (hormone receptor 3, HR3), 是一种蜕皮调节转录因子, 调控蜕皮过程中相关基因的表达, 是蜕皮级联反应中的关键因子。本文以八字地老虎 *Agrotis c-nigrum* L. 和粘虫 *Mythimna separata* Walker 预蛹期幼虫为材料, 分别提取总 RNA, 利用 RT-PCR 和 cDNA 末端快速扩增技术 (RACE), 分别扩增得到 2 种昆虫蜕皮激素接受子 3 (HR3) 的 5' 非编码区和完整开放阅读框在内的 cDNA 序列, 其中八字地老虎的 HR3 cDNA 序列含有 1 729 个碱基, 包括一个 1 533 个碱基的开放阅读框, 编码一个含 510 个氨基酸的蛋白, 分子量约为 57.5 ku。粘虫的 HR3 cDNA 序列含有 1 743 个碱基, 包括一个 1 536 个碱基的开放阅读框, 编码一个含 511 个氨基酸的蛋白, 分子量约为 57.9 ku。这 2 种昆虫 HR3 cDNA 序列推导的氨基酸序列均具有昆虫核受体超家族特征性结构域, 与其他昆虫, 尤其是鳞翅目昆虫的蜕皮激素接受子 3 的氨基酸序列高度同源。获得的基因 cDNA 序列已经登录 GenBank 并获得登录号, 八字地老虎 HR3 登录号为 GU188853, 粘虫 HR3 登录号为 GU188854。

关键词 八字地老虎, 粘虫, 蜕皮激素接受子 3, 分子克隆, 序列分析

昆虫的蜕皮和变态受到蜕皮激素 (ecdysteroid hormones, EH) 的严格调控。蜕皮激素的作用靶标由蜕皮激素受体 (ecdysteroid receptor, EcR) 和超气门蛋白 (ultraspiracle protein, USP) 组成。二者处于昆虫蜕皮、变态及繁殖等生命过程的级联反应启动位置, 对完

* 资助项目: 黑龙江省自然科学基金项目 (C2007-7)、黑龙江省教育厅科学技术研究项目 (11521020)、东北农业大学科学研究基金 (2005)。

** E-mail: dnlwulimei@126.com

*** 通讯作者, E-mail: dnfd@163.com

收稿日期: 2009-11-25, 修回日期: 2010-03-17

成昆虫的生长发育和繁殖具有十分重要的作用^[1]。目前认为昆虫蜕皮的分子调控机理是由蜕皮激素 20E 与蜕皮激素受体 EcR 和超气门蛋白形成的二聚体结合形成三聚体,再结合在早期转录因子的启动子部位,启动一系列早期转录因子表达,早期转录因子再调控下游的效应基因表达^[2]。目前已经报道的蜕皮调节转录因子有: EcR、USP、E78、E75、 β FTZ-F1、HR3^[3~7]等。已经克隆的蜕皮激素接受子 3 (HR3) 基因有: 黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* (DHR3)^[8], 烟草天蛾 *Manduca sexta* (MHR3)^[9], 蜡螟 *Galleria mellonella* (GHR3)^[10], 云杉卷叶蛾 *Choristoneura fumiferana* (CHR3)^[11], 棉铃虫 *Helicoverpa armigera* (HHR3)^[12], 这些蜕皮调节转录因子均属于核受体超家族 (nuclear receptor superfamily) 成员。对烟草天蛾中的研究认为,它可以调控蜕皮的下游基因表达,同时阻遏幼虫表皮蛋白表达,并通过结合蜕皮激素使蜕皮激素水平下降,从而反馈调控其自身表达,解除对表皮蛋白表达的抑制,开始形成新的表皮,因此蜕皮激素接受子 3 是蜕皮级联反应中的关键因子^[13]。因此对于蜕皮激素接受子 3 的研究对于揭示昆虫蜕皮机制具有重要意义并为将来的实践应用提供理论依据。

八字地老虎 *Agrotis c-nigrum* L. 和粘虫 *Mythimna separata* Walker, 均为鳞翅目夜蛾科昆虫,都是农业上的重要害虫。八字地老虎食性杂,主要危害粮食作物、棉花、烟草、蔬菜、药用植物等。幼虫在 3 龄前昼夜为害,4 龄后昼伏夜出为害根际,是重要的地下害虫^[14]。粘虫食性也较杂,寄主植物涉及禾本科、豆科、十字花科、蔷薇科、藜科、菊科等 16 个科 100 多种。主要为害水稻、小麦、玉米、高粱、谷子、糜子、甘蔗等禾本科作物和黑麦草、三叶草、各种草坪草等,也取食多种禾本科杂草,是一种暴食性害虫。幼虫取食叶片,对农作物产量和品质影响较大^[15]。克隆以上 2 种昆虫的 HR3 基因 cDNA 序列,为进一步明确 HR3 功能和昆虫蜕皮机制以及利用 HR3 对昆虫蜕皮过程的调控

作用有效控制害虫提供理论基础和依据。

1 材料和方法

1.1 昆虫材料、试剂、质粒与菌株

田间利用黑光灯诱集八字地老虎和粘虫成虫,室内产卵并用天然饲料喂养至预蛹期备用; RNA 提取试剂盒 TRIzol® Reagent 为 Invitrogen 公司产品、反转录酶 M-MLV Reverse Transcriptase、低熔点琼脂糖购自 Promega 公司; 克隆载体 pMD18-T、DNA 胶回收试剂盒、DL2000 DNA Marker、Taq plus DNA 聚合酶购自 TaKaRa 公司; 受体菌 DH5 α 由作者实验室保存,其余试剂为进口或国产分析纯。

1.2 昆虫总 RNA 的提取

八字地老虎和粘虫预蛹期幼虫总 RNA 的提取参照 RNA 提取试剂盒说明,每 100 mg 虫体加入 TRIzol® Reagent 1 mL。提取的总 RNA 放入 -80℃ 冰箱中备用。

1.3 cDNA 序列 5'端的克隆

根据已报道的 2 种昆虫: 棉铃虫 (GenBank 登录号 AF337637)、烟草天蛾 (GenBank 登录号 X74566) 的蜕皮激素接受子 3 (HR3) 核苷酸序列进行比较分析,结果发现 cDNA 序列大约在 440 bp 和 720 bp 处存在 2 个保守区序列,以此设计一对引物 HR3 和 antiHR3: HR3: 5' -ACA GTG GTG AAC TAC CAG TG -3' 和 anti HR3: 5' -GAC CAT GGA ACT GGT CGC TT -3'。以 Oligo (dt) 3site adapter primer: 5' - GAC TCG AGT CGA CAT CGA (T)₁₇ -3' 为 cDNA 合成引物,合成的 cDNA 以 HR3 和 antiHR3 扩增八字地老虎和粘虫的 HR3 的 cDNA 序列的特异片段,PCR 反应条件: 94℃ 预变性 3 min; 94℃, 30 s; 61.5℃, 1 min; 72℃, 1 min, 30 个循环; 72℃ 延伸 10 min。PCR 产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测。PCR 产物回收,与 pMD18-T vector 连接,转化 *E. coli* DH5 α , 菌落在含有 X-gal 和 IPTG 的平板上进行蓝白斑筛选,对白斑进行酶切和 PCR 鉴定,方法按 Sambrook 和 Russell^[16] 进行。连接正确的重组子由上海生物工程公司进行序列测定。

利用 TaKaRa5'-Full RACE Kit,在已得到的八字地老虎和粘虫的 HR3 基因片段中根据试剂盒中的 5'- RACE Outer Primer 和 5'- RACE Inner Primer 分别设计八字地老虎引物 BHR3 outer primer:5'-ATG GAA CCG CAC CTC GTC TTC CAC CTT CTC ACG T-3' 和 BHR3 inner primer:5'-TCT GTA GCC GAC AGT ACT GGC AG -3';粘虫引物 NHR3 outer primer:5'-TTG TTG CTG GGC GTC GTA CAC CGA ATC AGG TGC T-3' 和 NHR3 inner primer:5'-CGT CCG AAT TTC ACC GCG TCA CG -3'。利用试剂盒提供的方法进行扩增,PCR 产物回收、连接、转化并测序。

1.4 开放读码框 3'cDNA 序列的克隆

以棉铃虫 HR3 开放读码框的 3'端设计下游引物 HR32:5'-TTA ACC GTG GGT GTA GTC -3',根据得到的八字地老虎和粘虫的 HR3 5'序列分别设计克隆基因开放读码框 3'端的上游引物,其中 BHR31 为八字地老虎的开放读码框 3'端上游引物,BHR31:5'- AAC GTG AGA AGG TGG AAG -3',NHR31 为粘虫的开放读码框 3'端上游引物,NHR31:5'- GAT GAG ACA GCA GAC TGA -3'。利用 BHR31 和 HR32 扩增八字地老虎 HR3 开放读码框 3'端序列;利用 NHR31 和 HR32 扩增粘虫 HR3 开放读码框 3'端序列。

1.5 序列分析

利用 ExPASy 网站(<http://us.expasy.org/tools/dna.html>) 的蛋白分析软件对获得的 cDNA 序列进行翻译,推导氨基酸序列、分子量、等电点及结构域预测。利用 DNAMAN、ClustalW 和 BOXSHADE 等软件进行多序列比较与系统进化树分析。

2 结果与分析

2.1 HR3 基因 cDNA 序列的获得

利用 RT-PCR 和 RACE 技术扩增出蜕皮激素接受子 3(HR3) 基因 5'端部分 cDNA 序列,得到的 PCR 产物经序列测定,在 GenBank 上用 Blast 软件搜索,找到同源性较高的序列均为昆

虫蜕皮激素接受子 3(HR3) cDNA 序列,初步断定这段 cDNA 序列属于昆虫蜕皮激素接受子 3(HR3) 全长 cDNA 序列的一部分。利用获得的 5'端序列设计的引物,克隆得到了这个基因的 3'端,经过序列拼接得到基因包括完整开放读码框在内的 cDNA 序列。克隆得到的八字地老虎和粘虫的蜕皮激素接受子 3(HR3) cDNA 序列已经登录 GenBank 并获得登录号。八字地老虎 HR3 登录号为 GU188853,粘虫 HR3 登录号为 GU188854。cDNA 序列及其推导的氨基酸序列见图 1 和图 2。

2.2 HR3 基因 cDNA 序列和氨基酸序列分析

八字地老虎 HR3 序列含有 1 729 个碱基,包括一个 1 533 个碱基的开放阅读框,编码一个含 510 个氨基酸的蛋白,分子量约为 57.5 ku,多肽的等电点为 6.76;粘虫 HR3 序列含有 1 743 个碱基,包括一个 1 536 个碱基的开放阅读框,编码一个含 511 个氨基酸的蛋白,分子量约为 57.9 ku,多肽的等电点为 8.52。按照蜕皮激素接受子 3 的特征可以把 HR3 氨基酸序列分为 5 个区域:A/B、C、D、E、F。粘虫和八字地老虎 HR3 氨基酸的 A/B 区(transactivator 区)由 60 个氨基酸组成;C 区(DNA binding 区,图 1 和图 2 中以黑色背景表示的氨基酸序列)由 66 个氨基酸组成;粘虫 D 区(hinge 区)由 149 个氨基酸组成,八字地老虎 D 区由 148 个氨基酸组成,二者在本区氨基酸数量相差 1 个;E 区(ligand binding 区)均由 226 个氨基酸组成,F 区由 10 个氨基酸组成。

2.3 HR3 氨基酸序列同源性比较和系统进化分析

把已经登录 GenBank 的 16 种昆虫蜕皮激素接受子 3(HR3) cDNA 序列(埃及伊蚊 *Aedes aegypti* AF230281,冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* XM_319750,致倦库蚊 *Culex quinquefasciatus* XM_001865799,黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* M90806,云杉卷叶蛾 *Choristoneura fumiferana* U37528,棉铃虫 *Helicoverpa armigera*1 AF337637,棉铃虫 *Helicoverpa armigera*2 FJ009448,烟草天蛾

1 CAAACTTTTTGGCACCGCTACTTACATTTTGGAAATAAAACCAAACGTCAAAATTCGCCG
61 CGCTTTTCTCGCGTCGCCTTCTGTGTTCATTTTTAAAAAATTTTTAATAGCCAGTGCT
121 TTTTGCATTTTGGACTCGTGTGTGAACTTTTTGGATTGTTTAAACAAATGCATTACGTG
181 GATTGTACAAAAATGGATGATCGAGTGTTTGTGTGCAAGTAAAGTGTATGGTACAAT
1 M I E C L C V Q V K C Y G T I
241 TGTGCTAGTGTTGGGCCTTGGGGCCAATATGTTGAACATGTTTCGATATGTGGAACCTCTGT
16 V L V L G L G A N M L N M F D M W N S V
301 TAGACCAAAGCTGGAGCAGACCAACATCCAACAAAGCCAGCAACCGCACACTTCAGTCA
36 S T K L E Q T N I Q Q S Q Q P H T S A Q
361 AATCGAGATGATACCATGCAAGGTTGCGGGGACAGTCATCCGGCGCTCCATTATGGCGT
56 I E M I P C K V C G D K S C G V H Y G V
421 CATCACCTGCGAAGGATGCAAGGGATTCTTCAGACGGTCCCAGAGCACAGTGGTGAACCTA
76 I T C E G C A K G G F F R R S Q S T V V N Y
481 CCAGTGTCTTCGGAACAAGGCTGCGTGGTGATCGCGTAAACAGGAACCGCTGCCAGTA
96 Q C P R N K A C V V D R V N R N R C Q Y
541 CTGTCCGGCTACAGAAGTGCTTGAAGCTCGGGATGAGTTCGTGATGCGGTGAAGTTTGGACG
116 C R L Q K C L K L G M S R D A V K F G R
601 TATGTGCAAAAAGCAACGTGAGAAGGTGGAAGACGAGGTGCGGTTCCATCGGGGCACAAAT
136 M S K K Q R E K V E D E V R F H R A Q M
661 GACACGGCAGAATGATACAGCGCCTGATTTCGGTATACGACGCCCAGCAACAGACGCCGAG
156 T R Q N D T A P D S V Y D A Q Q Q T P S
721 CTCAAGCGACCAAGTTCATGGTCATTATAATGGCTACCCTGGCTACGGGTCCCCGCTGTC
176 S S D Q F H G H Y N G Y P G Y G S P L S
781 TTCCTACGGGTACAACAACGACGCTCCAGCCCTCACATCCAACATGGCGGGATCCAGCC
196 S Y G Y N N A G P A L T S N M G G I Q P
841 GCAACCAAGTCAACACAACCTACGATGTATCAGCAGACTACGTCGATTCCACCACAGC
216 Q P A Q Q Q P Y D V S A D Y V D S T T A
901 TTACGAACCGAAACAGACTGGAGGATTCTCTGGATCCTGATTTCATCAGTCATCGGGAGGG
236 Y E P K Q T G G F L D P D F I S H A E G
961 CGATATCAGCAAGGTCCTTGTGAAGAGTTTGGCTGAAGCACACGCGAATACCAACCCATA
256 D I S K V L V K S L A E A H A N T N P K
1021 ACTGGAGTTTACATATGAGATGTTTCAAGAGCCACAGGATGTTTCCAAGCTCTATACTA
276 L E F I H E M F R K P Q D V S K L L L Y Y
1081 CAGTTCAATGACCTACGAGGAGATGTGGCTAGACTGCGCTGACAAACTGACCGGGATGAT
296 S S M T Y E E M W L D C A D K L T G M I
1141 TCAGAACATCATTTAGTTCGCTAAACTTATACCGGGATTTCATGAAGTTGACGCAAGATGA
316 Q N I I E F A K L I P G F M K L T T Q D D
1201 TCAGATTCTGCTGTTGAAATCTGGCTCGTTTCGAGTTGGCCATGTTTCGGCTTTTCGCGGCT
336 Q I L L L K S G S F E L A I V R L S R L
1261 GATTGACGTGAATAGAGACCAGGTGTTGTATGGAGATGTGGTCTGCCATCCGGGAGTG
356 I D V N R D Q V L Y G D V V G T P I R E C
1321 CGTGCATGCACGTGATCCCCGCGACGTGGCGCTAGTGGTGGGAATATTTGACGCGCGCAA
376 V H A R D P R D V A L V V G I F D A A K
1381 GACGATCGCGGACTCAAACCTGACTGAGACTGAACCTGCGCTTACCAGAGCCTGTGTGT
396 T I A R L K L T E T E L A L Y Q S L V L
1441 ATTGTGGCCAGAACGGCACGCGCTCCGTGGTAACCCGGAGATCCAGTGCTGTTCATAT
416 L W P E R H G V R G N P E I Q C L F N M
1501 GTCCGATGCGCGCATGCGGCGACGATCGAGACTAACCCAGCGCCATCAAGGTGACGT
436 S M A A M R H E I E T N H A P L K G D V
1561 CACTGTCTAGACACGCTGTTGGCTAAGATACCCACCTTCAGAGAACATATCGCTGATGCA
456 T V L D T L L A K I P T F R E L S L M H
1621 CCTCGAGGCGCTGTGTGCTTCAAGGCGGCACATCCCCACCACGTGTTCCACGCGCTCTA
476 L E A R L R F K A A H P H V F P A A L Y
1681 CAAGGAGCTGTTTCTCACTCGACAGTGTTTCTGGACTACACCAACGGT TAA
496 K E L F S L D S V L D Y T N G *

图1 八字地老虎 HR3 核苷酸序列及推导的氨基酸序列

注:起始密码子 ATG 和终止密码子 TAA 用边框标出,C 区(DNA binding region)以背景加黑表示, E 区(ligand binding region)以下划线表示。(下同)

Manduca sexta X74566, 蜡螟 *Galleria mellonella* U02621, 家蚕 *Bombyx mori* NM_001043547, 印度谷螟 *Plodia interpunctella* AY573570, 粘虫 *Mythimna separata* GU188854, 八字地老虎 *Agrotis c-nigrum* GU188853, 赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* XM_969468, 意大利蜜蜂 *Apis*

mellifera XM_392128, 德国小蠊 *Blattella germanica* AM259130) 推导的氨基酸序列进行系统进化分析(图3), 对其中的9种鳞翅目昆虫HR3进行多重序列比较(图4)。系统进化树分析表明, 鳞翅目昆虫的HR3首先聚类, 然后再与其他目昆虫聚类, 但同时我们注意到, 在

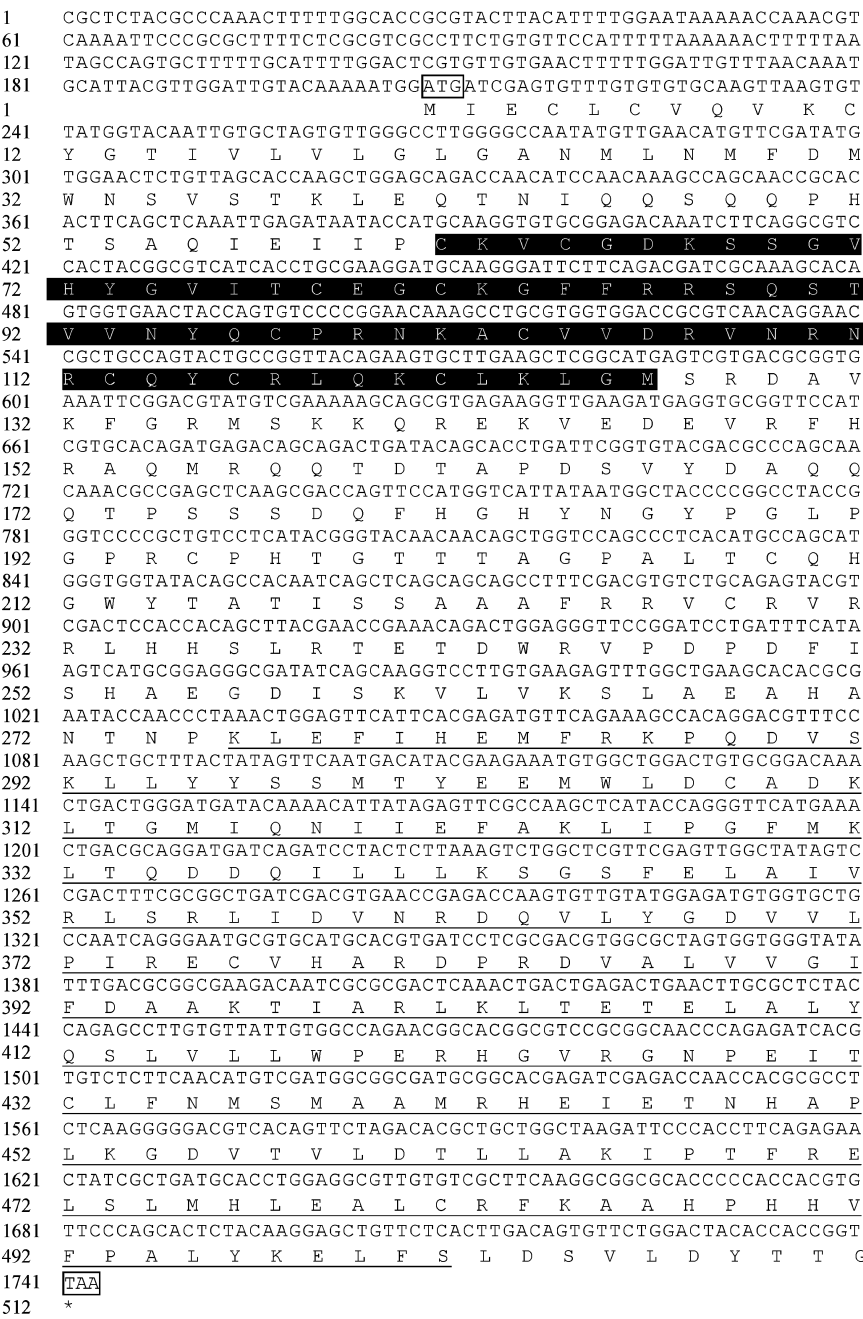


图2 粘虫 HR3 核苷酸序列及推导的氨基酸序列

鳞翅目昆虫 HR3 中,其进化关系与形态分类关系并不一致,我们克隆的属于夜蛾科昆虫的 HR3 与另外一种夜蛾科昆虫棉铃虫的 HR3 在系统树上的关系相对较远,而与家蚕科昆虫 *Bombyx mori* 的 HR3 系统关系较近;系统树上的其他昆虫之间的关系也不能完全符合形态分

类关系。

由图 4 的序列比对可知,我们克隆的 2 个 HR3 cDNA 序列推导的氨基酸序列与其他鳞翅目昆虫 HR3 氨基酸序列在 N 端(A/B 区)差异较大,在其他区同源性较高。而克隆的 2 个 HR3 的氨基酸序列在 A/B 区同源性很高,只有

AF337637	.MNNNQFHDLFSGQWPPDQHGHHSSASTMLHQSOG.LPQGMQLKREPHTDVQPVMHNMQMGTDITSGSVADSTSPPPGSSD
FJ009448	.MNNNQFHDLFSGQWPPDQHGHHSSASTMLHQSOG.LPQGMQLKREPHTDVQPVMHNMQMGTDITSGSVADSTSPPPGSSD
U02621	.MNNNQFHELFSGQWPPDQHGHHSSASTMLHQAQSPLPQGMRLKREPHTDVQVPMHNMQMGTDITSGSVADSTSPPPGSSD
X74566	.MNNNQFHELFSGQWPPDQHGHHSSASTMLHQQTM...PQTMQLKREPHTEVG.VMHNQMGMDDITSGSVADSTSPPPGSSD
GU188853	.MIECLCVQVKCYGTIVLVILGLGANMLNMFDMWN...SVSTKLEQTNIQ.....
GU188854	.MIECLCVQVKCYGTIVLVILGLGANMLNMFDMWN...SVSTKLEQTNIQ.....
NM_0010435	MLNMFDMWN...SVSKLEAQSNVQ.....
AY573570	.MISIQLGQHSACRRALHKRAGLTWTSTSILOQHTT...RLSTLLKSDFRQRVR.VLLYRLDIESTTRALPDCPASPP.VIT
U37528	MMNNGQFPFLFSGQWPPDQHGHHSSANTMLHPSMQ....STMVKREPHTD...VMHSGMQMGMDIASVADSTSPPPGSD
AF337637	GMFGSSISGMFMDKKAANSIRAQIBTIIPCKVCGDKSSGVHYGVITCEGCKGFFRRSQSTVVNYQCPRNKACVVDVRNRR
FJ009448	GMFGSSISGMFMDKKAANSIRAQIBTIIPCKVCGDKSSGVHYGVITCEGCKGFFRRSQSTVVNYQCPRNKACVVDVRNRR
U02621	GMFGSSISGMFMDKKAANSIRAQIBTIIPCKVCGDKSSGVHYGVITCEGCKGFFRRSQSTVVNYQCPRNKACVVDVRNRR
X74566	GMFG.PISGMFMDKKAANSIRAQIBTIIPCKVCGDKSSGVHYGVITCEGCKGFFRRSQSTVVNYQCPRNKACVVDVRNRR
GU188853	QSQQPHTS.....AQIEMIIPCKVCGDKSSGVHYGVITCEGCKGFFRRSQSTVVNYQCPRNKACVVDVRNRR
GU188854	QSQQPHTS.....AQIEMIIPCKVCGDKSSGVHYGVITCEGCKGFFRRSQSTVVNYQCPRNKACVVDVRNRR
NM_0010435	QSQQPHTSGGST.....AQIEMIIPCKVCGDKSSGVHYGVITCEGCKGFFRRSQSTVVNYQCPRNKACVVDVRNRR
AY573570	ARTLVHITALIVNKQPTYTIRAQIBTIIPCKVCGDKSSGVHYGVITCEGCKGFFRRSQSTVVNYQCPRNKACVVDVRNRR
U37528	GMFSTSMNAMFMDKKGANSIRAQIBTIIPCKVCGDKSSGVHYGVITCEGCKGFFRRSQSTVVNYQCPRNKACVVDVRNRR
AF337637	CQYCRLOKCLKLGMSRDAVKFGRMSKKQREKVEDEVRFHRAQMBRACDITAPDSVYDAQOQTSSSDQFHGHYNGYPGYS
FJ009448	CQYCRLOKCLKLGMSRDAVKFGRMSKKQREKVEDEVRFHRAQMBRACDITAPDSVYDAQOQTSSSDQFHGHYNGYPGYS
U02621	CQYCRLOKCLKLGMSRDAVKFGRMSKKQREKVEDEVRFHRAQMBRACDITAPDSVYDAQOQTSSSDQFHGHYNGYPGYS
X74566	CQYCRLOKCLKLGMSRDAVKFGRMSKKQREKVEDEVRFHRAQMBRACDITAPDSVYDAQOQTSSSDQFHGHYNGYPGYS
GU188853	CQYCRLOKCLKLGMSRDAVKFGRMSKKQREKVEDEVRFHRAQMBRACDITAPDSVYDAQOQTSSSDQFHGHYNGYPGYS
GU188854	CQYCRLOKCLKLGMSRDAVKFGRMSKKQREKVEDEVRFHRAQMBRACDITAPDSVYDAQOQTSSSDQFHGHYNGYPGYS
NM_0010435	CQYCRLOKCLKLGMSRDAVKFGRMSKKQREKVEDEVRFHRAQMBRACDITAPDSVYDAQOQTSSSDQFHGHYNGYPGYS
AY573570	CQYCRLOKCLKLGMSRDAVKFGRMSKKQREKVEDEVRFHRAQMBRACDITAPDSVYDAQOQTSSSDQFHGHYNGYPGYS
U37528	CQYCRLOKCLKLGMSRDAVKFGRMSKKQREKVEDEVRFHRAQMBRACDITAPDSVYDAQOQTSSSDQFHGHYNGYPGYS
AF337637	P.LSSYGYN.NAGPALQSNMGGIQPAPQQQPYDVSADYVDSITAYEPKQTGGFLDPDFISHAEGDISKVLVKSIAEHA
FJ009448	P.LSSYGYN.NAGPALQSNMGGIQPAPQQQPYDVSADYVDSITAYEPKQTGGFLDPDFISHAEGDISKVLVKSIAEHA
U02621	P.LSSYGYNGNAGPALTNM.N.IQPAPQQQPYDVSADYVDSITAYEPKQTGGFLDPDFISHAEGDISKVLVKSIAEHA
X74566	P.LSSYGYN.NAGPPLTNSMSSIQAPQAQPPY....DYADSTTTEYEPKQPG.YLPDADTIGQVEDISKVLVKSIAEHA
GU188853	P.LSSYGYN.NAGPALTNSMGGIQPAPQQQPYDVSADYVDSITAYEPKQTGGFLDPDFISHAEGDISKVLVKSIAEHA
GU188854	PRCPHTGTT.TAGPALTCQHGWTATISSAAFFRRVCRVRLHHSRTETDWRVDPDFISHAEGDISKVLVKSIAEHA
NM_0010435	P.LSSYGYN.NAGPALPNSMGMQPPAPQPPYEVSGDYVDSITTEYEPK.QTGFLDADTISHVEGDISKVLVKSIAEHA
AY573570	P.LSSYGYN.NAGPILPSHMCGFHPQLR....DKLPNDYVHYTTTEYEPK.QLQDIDADTISKLEGDISKVLVKSIAEHA
U37528	P.LSSYGYN.NTAPSLTSTMIQPHADSAA...IRRTSGLCGLTAYEPK.QGGFLDADNWSRRSDISKVLVKSIAEHA
AF337637	NTNPKLEFIHEMFRKPQDVSKLLYSMTYBEMWLDCAKDLTGMIQNIIEFAKLIIPGFMKLIQDDQIILLKSGSFELAIV
FJ009448	NTNPKLEFIHEMFRKPQDVSKLLYSMTYBEMWLDCAKDLTGMIQNIIEFAKLIIPGFMKLIQDDQIILLKSGSFELAIV
U02621	NTNPKLEYIHEMFRKPPQDVSKLLYSMTYBEMWLDCAKDLTGMIQNIIEFAKLIIPGFMKLIQDDQIILLKSGSFELAIV
X74566	NTNPKLEYINEMFSKPPQDVSKLLYSMTYBEMWLDCAKDLTGMIQNIIEFAKLIIPGFMKLIQDDQIILLKSGSFELAIV
GU188853	NTNPKLEFIHEMFRKPQDVSKLLYSMTYBEMWLDCAKDLTGMIQNIIEFAKLIIPGFMKLIQDDQIILLKSGSFELAIV
GU188854	NTNPKLEFIHEMFRKPQDVSKLLYSMTYBEMWLDCAKDLTGMIQNIIEFAKLIIPGFMKLIQDDQIILLKSGSFELAIV
NM_0010435	NTNPKLDYIHEMFGKPQDVSKLLYSMTYBEMWLDCAKDLTGMIQNIIEFAKLIIPGFMKLIQDDQIILLKSGSFELAIV
AY573570	NTNPKLEYI....KPHDVSQVLYSYMTYBEMWLDCAKDLTGMIQNIIEFAKLIIPGFMKLIQDDQIILLKSGSFELAIV
U37528	NTNPKLEYIHEMLRKPQDVAKQLYSMTYBEMWLDCAKDLTGMIQNIIEFAKLIIPGFMKLIQDDQIILLKSGSFELAIV
AF337637	RLSRLIDVNRDQVLYGDAVLSTIRECVHARDPRDVALVVGIFDAAKTIARLKLITETELALYQSLVLWLPBRHGVRGNPEIQ
FJ009448	RLSRLIDVNRDQVLYGDAVLSTIRECVHARDPRDVALVVGIFDAAKTIARLKLITETELALYQSLVLWLPBRHGVRGNPEIQ
U02621	RLSRLIDVNRDQVLYGDVVLPIRECVHARDPRDVALVVGIFDAAKTIARLKLITETELALYQSLVLWLPBRHGVRGNPEIQ
X74566	RLSRLIDVNRDQVLYGDVVLPIRECVHARDPRDVALVVGIFDAAKTIARLKLITETELALYQSLVLWLPBRHGVRGNPEIQ
GU188853	RLSRLIDVNRDQVLYGDVVLPIRECVHARDPRDVALVVGIFDAAKTIARLKLITETELALYQSLVLWLPBRHGVRGNPEIQ
GU188854	RLSRLIDVNRDQVLYGDVVLPIRECVHARDPRDVALVVGIFDAAKTIARLKLITETELALYQSLVLWLPBRHGVRGNPEIQ
NM_0010435	RLSRLIDVNRDQVLYGDVVLPIRECVHARDPRDVALVVGIFDAAKTIARLKLITETELALYQSLVLWLPBRHGVRGNPEIQ
AY573570	RLSRLIDVNRDQVLYGDVVLPIRECVHARDPRDVALVVGIFDAAKTIARLKLITETELALYQSLVLWLPBRHGVRGNPEIQ
U37528	RLSRLIDVNRDQVLYGDVVLPIRECVHARDPRDVALVVGIFDAAKTIARLKLITETELALYQSLVLWLPBRHGVRGNPEIQ
AF337637	CLFNMSMAAMRHEIETNHAPLKGDTVLDTLAKIPTFRELSLMHLEALORFKAAPHHVFPALYKELFSLDSVLDYT
FJ009448	CLFNMSMAAMRHEIETNHAPLKGDTVLDTLAKIPTFRELSLMHLEALORFKAAPHHVFPALYKELFSLDSVLDYT
U02621	CLFNMSMAAMRHEIETNHAPLKGDTVLDTLAKIPTFRELSLMHLEALORFKAAPHHVFPALYKELFSLDSVLDYT
X74566	CLFNMSMAAMRHEIETNHAPLKGDTVLDTLAKIPTFRELSLMHLEALORFKAAPHHVFPALYKELFSLDSVLDYT
GU188853	CLFNMSMAAMRHEIETNHAPLKGDTVLDTLAKIPTFRELSLMHLEALORFKAAPHHVFPALYKELFSLDSVLDYT
GU188854	CLFNMSMAAMRHEIETNHAPLKGDTVLDTLAKIPTFRELSLMHLEALORFKAAPHHVFPALYKELFSLDSVLDYT
NM_0010435	CLFNMSMAAMRHEIETNHAPLKGDTVLDTLAKIPTFRELSLMHLEALORFKAAPHHVFPALYKELFSLDSVLDYT
AY573570	CLFNMSMAAMRHEIETNHAPLKGDTVLDTLAKIPTFRELSLMHLEALORFKAAPHHVFPALYKELFSLDSVLDYT
U37528	CLFNMSMAAMRHEIETNHAPLKGDTVLDTLAKIPTFRELSLMHLEALORFKAAPHHVFPALYKELFSLDSVLDYT

图4 鳞翅目昆虫 HR3 氨基酸序列比对

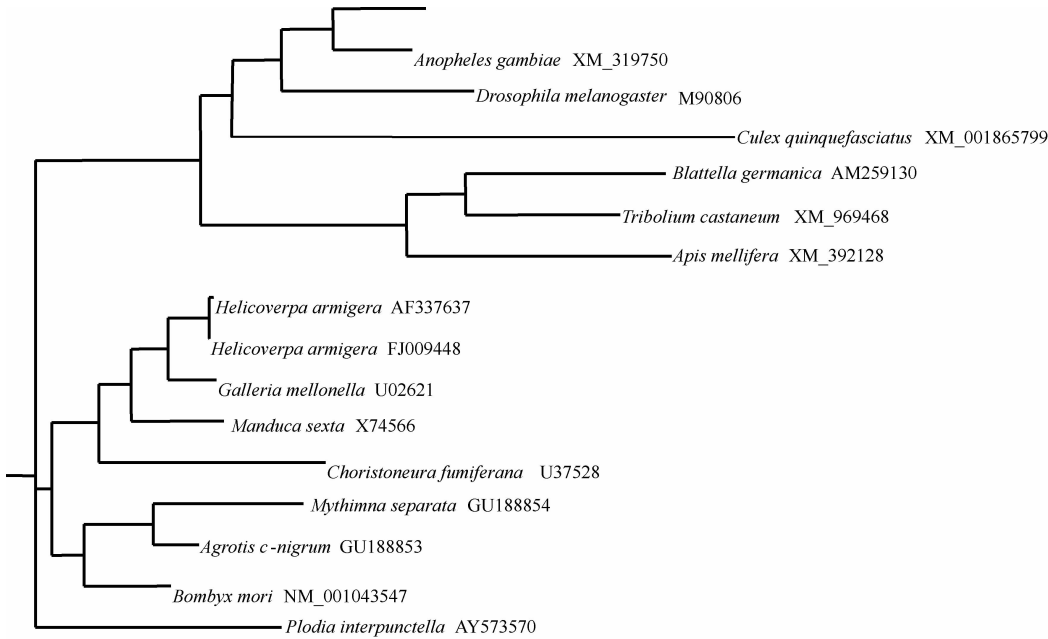


图 3 登录 GenBank 的昆虫 HR3 系统进化分析

一个氨基酸的差异,二者在 D 区的 190 ~ 246 bp 之间差异最显著,56 个氨基酸中只有 8 个相同,同源性只有 14.3%,远远小于 89.4% 的整体同源性,与其他昆虫 HR3 相应区域比较差异亦较大。

3 讨论

本研究利用 RT-PCR 和 RACE 技术,成功克隆了八字地老虎和粘虫的蜕皮激素接受子 3(HR3)cDNA 序列,序列已经登录 GenBank 并获得登录号,氨基酸特征和序列比对表明,该序列具有典型的核受体超家族的特征,与其他昆虫的蜕皮激素接受子 3(HR3)氨基酸序列高度同源,但在 N 端具有与其他 HR3 显著不同的氨基酸序列,应为 2 个特异性较强的 HR3 基因。昆虫 HR3 在系统进化树上的相互关系不能完全符合形态分类关系表明在昆虫体内可能存在多种 HR3,在棉铃虫中已经克隆出 2 个 HR3 基因,初步证明了我们的推断。八字地老虎和粘虫 HR3 种类的多少还需我们进一步的试验证实。

昆虫蜕皮影响因子一直是害虫控制的研究

靶标。HR3 基因的获得可以为进一步明确昆虫蜕皮机理提供条件,为基于昆虫蜕皮激素受体的新杀虫剂的创制和活性筛选技术的建立提供理论和技术支持^[17]。

参 考 文 献

- 1 刘永杰,徐蓬军,李艳伟,等. 昆虫蜕皮激素受体及其类似物的杀虫机制研究进展. 昆虫学报, 2007, **50**(1):67 ~ 73.
- 2 Palli S. R., Ladd T. R., Sohi S. S. Cloning and developmental expression of Choristoneura hormone receptor 3, an ecdysone-inducible gene and a member of the steroid hormone receptor superfamily. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 1996, **26**(5):485 ~ 499.
- 3 Koelle M. R., Talbot W. S., Segraves W. A. The *Drosophila* EcR gene encodes an ecdysone receptor, a new member of the steroid receptor superfamily. *Cell*, 1991, **67**(1):59 ~ 77.
- 4 Yao T. P., Segraves W. A., Oro A. E. *Drosophila* ultraspiracle modulates ecdysone receptor function via heterodimer formation. *Cell*, 1992, **71**(1):63 ~ 72.
- 5 Stone B. L., Thummel C. S. The *Drosophila* 78 C early late puff contains E78, an ecdysone-inducible gene that encodes a novel member of the nuclear hormone receptor super family. *Cell*, 1993, **75**(2):307 ~ 320.
- 6 Segraves W. A., Hogness D. S. The E75 ecdysone inducible gene responsible of the steroid receptor superfamily. *Genes*

- Dev.* , 1990, **4**(2):204~219.
- 7 Lavorgna G. , Karim F. D. , Thummel C. S. Potential role for a FTZ-F1 steroid receptor superfamily member in the control of *Drosophila* metamorphosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* , 1993, **90**(7):3 004~3 008.
- 8 Koelle, M. R. , Segraves, W. A. , Hogness, D. S. DHR3;a new *Drosophila* steroid receptor homolog. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* ,1992, **89**(13):6 167~6 171.
- 9 Palli S. R. , Hiruma K. , Riddiford L. M. An ecdysteroid-inducible *Manduca* gene similar to the *Drosophila* DHR3 gene,a member of the steroid hormone receptor superfamily. *Dev. Biol.* , 1992, **150**(2):306~318.
- 10 Subba R. P. , Tim R. M. , Sardar S. S. Cloning and developmental expression of Choristoneura hormone receptor 3, an ecdysone inducible gene and a member of the steroid hormone receptor superfamily. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 1996, **26**(5):485~499.
- 11 Debernard S. , Bozzolan F. , Duportets L. Periodic expression of an ecdysteroid-induced nuclear receptor in a Lepidopteran cell line (IAL-PID2). *Insect Biochem. Mol. Biol.* , 2001, **31**(11):1 057~1 064.
- 12 Zhao X. F. , Wang J. X. , Xu X. L. Molecular cloning and expression patterns of the molt-regulating transcription factor HHR3 from *Helicoverpa armigera*. *Insect Mol. Biol.* , 2004, **13**(4):407~412.
- 13 Hammock B. D. , Sparks T. C. A rapid assay for insect juvenile hormone esterase activity. *Anal. Biochem.* , 1977, **82**:573~579.
- 14 张履鸿,李国勋,赵奎军. 农业经济昆虫学. 哈尔滨:哈尔滨船舶学院出版社,1993. 231.
- 15 仵均祥,袁国辉,史树森. 农业昆虫学. 中国农业出版社,北京,2002.93~94.
- 16 Sambrook J. , Russell D. W. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 3rd ed. Cold Spring Harbor Publications, New York, 2001. 96~105.
- 17 赵小凡. 昆虫蜕皮的分子机理及应用. 昆虫知识,2007,**44**(3):323~326.