

马拉硫磷对东亚飞蝗消化道影响的形态学观察^{*}

吴海强^{1**} 程 鹤¹ 朱妍妍¹ 李美瑶¹ 白晓刚² 李广泽³ 孔 建³ 刘志刚⁴

(1. 深圳大学生命科学学院 深圳 518060; 2. 天津三环乐喜新材料有限公司 天津 300457;

3. 深圳诺普信农化股份有限公司 深圳 518102; 4. 深圳大学医学院 深圳 518060)

摘 要 为探讨农药马拉硫磷对东亚飞蝗 *Locusta migratoria manilensis* (Meyen) 消化系统的影响, 文中以喂食形式给药, 不同喂食时间点蝗虫处死后固定、石蜡包埋、连续切片、HE 染色并观察蝗虫消化系统不同部位形态学的病理变化。结果表明马拉硫磷对东亚飞蝗嗉囊、前胃、胃盲囊、中肠、回肠、结肠、直肠等各消化道部位均能造成明显的形态学改变, 包括内膜完整性被破坏、上皮细胞死亡、纵肌、环肌、结缔组织等病变和坏死等, 且呈时间依赖性。故马拉硫磷的作用可以影响到东亚飞蝗对食物贮存、研磨、消化、养分吸收的每一个环节, 最终导致蝗虫的死亡。本文研究结果对蝗虫防治研究具有重要意义。

关键词 马拉硫磷, 东亚飞蝗, 消化道, 形态学

Morphology of the digestive system of *Locusta migratoria manilensis* after ingesting malathion

WU Hai-Qiang^{1**} CHENG He¹ ZHU Yan-Yan¹ LI Mei-Yao¹
BAI Xiao-Gang² LI Guang-Ze³ KONG Jian³ LIU Zhi-Gang⁴

(1. College of Life Sciences, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China; 2. Tianjin Sanhuan Lucky New

Materials INC, Tianjin 300457, China; 3. Shenzhen Noposion Agrochemicals Co., LTD., Shenzhen 518102, China;

4. College of Medicine, Shenzhen University, Shenzhen 518060, China)

Abstract The digestive system of *Locusta migratoria manilensis* (Meyen) that had ingested Malathion was observed under light microscopy. The morphology of the crop, proventriculus, gastric caecum, midgut, ileum, cecolon and rectum was affected markedly by contact with Malathion. The main pathological changes were damaged intima, dead epithelial cells, necrotic longitudinal muscle, necrotic circular muscle, and so on. These results here demonstrate that Malathion can adversely affect on the complete process of digestion, including food storage, grinding and nutrient absorption, ultimately causing death.

Key words malathion, *Locusta migratoria manilensis*, digestive system, morphology

蝗虫(飞蝗属 *Locusta* Linnaeus)是一种重要的洲际农业害虫, 全世界已发现 1 万多种, 在绝大多数国家都有不同程度的危害, 非洲和亚洲一些发展中国家的蝗灾发生更为频繁, 危害也最重。蝗灾还常常与水灾、旱灾相间或相伴发生, 成为严重威胁农业生产和人民生活的三大自然灾害之一。我国长期以来受蝗灾的威胁, 受灾面积广, 涉及河南、河北、内蒙古、山东、陕西、山西、天津、安

徽、江苏、海南等省份, 爆发频次高, 造成的危害十分严重(陈永林, 2000; 刘玲和郭安红, 2006)。每年我国都要投入大量的人力物力进行蝗灾防治, 但由于受全球气候异常、人为破坏等因素的影响, 20 世纪末期至今蝗灾发生的频率有逐年升高的趋势, 河北白洋淀、沧州沿海等地蝗灾持续大发生; 2002 年蝗虫特大暴发, 发生面积达 2.93×10^7 hm^2 , 为 40 年来发生最为严重的一年, 2011 年湖南

^{*} 资助项目: 国家八六三计划(2006AA10Z236)、深圳市科技计划项目、深圳大学科技创新团队项目(T200904)和深圳市重点实验室组建项目(SW201110010)。

^{**} 通讯作者, E-mail: wuhq@szu.edu.cn

收稿日期: 2011-12-29, 接受日期: 2012-06-18

长沙地区亦有发生(任春光等, 2005; 李耀发等, 2010; 汪建沃, 2011)。因此, 蝗虫防治依然是人们重点关注的农业问题之一。

化学防治方法是大规模蝗虫灾害防治的主要方法, 常用农药包括马拉硫磷、溴氰菊酯等(郑先云等, 2005; 汪建沃, 2011)。马拉硫磷是一种有机磷农药, 因其毒性低、残效期短、广谱性, 被农业部批准为无公害的农药品种之一, 并广泛使用(卢芙蓉等, 2004; 郑先云等, 2005)。东亚飞蝗是我国最常见的一个蝗虫亚种, 也是蝗虫防治的重点对象(任春光等, 2005; 郑先云等, 2005)。马拉硫磷用于东亚飞蝗的防治具有较好的效果, 本文中则研究了马拉硫磷对东亚飞蝗消化道的的影响, 为蝗虫防治和新农药的研究提供必要的理论支持, 现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料试剂

东亚飞蝗 *Locusta migratoria manilensis* (Meyen) 由中国农业科学院提供; 马拉硫磷为市面销售 45% 乳液, 购于佛山市大兴生物化工有限公司(农药登记号: PD84105-10, 许可证书号: XK13-003-00043, 执行标准号: HG3284-2000), 苏木素(Hematoxylin) 购于 BBI 公司, 塑化石蜡(熔点 56~57℃) 购于 Paraplast Sigma 公司, 中性树胶购于上海生工生物工程有限公司, 二甲苯、乙醇、盐酸、氯仿、盐酸、冰醋酸等其他药品试剂均为国产分析纯, 购于上海国药集团和广州化学试剂厂。

1.2 仪器设备

LEICA 手摇轮转式组织切片机(RM2016, 上海徕卡仪器有限公司)、DHG 电热恒温鼓风干燥箱(9240A, 上海精宏实验设备有限公司)、病理组织烘漂仪(TEC2500, 常州市郝思琳医用仪器有限公司)、Motic 生物显微镜(BA210, MOTIC 公司)、专业图像分析软件 Image-Pro Plus, IPP (Media Cybernetics 公司)、专业显微数码相机(DP70, Olympus 公司)、光学显微镜(BX51, Olympus 公司)、中科美菱实验用冰箱(YCD-DL259, 中科美菱公司)等。

1.3 蝗虫胃毒试验

(1) 45% 马拉硫磷乳液以去离子水稀释 1 000 倍得马拉硫磷水溶液。新鲜麦苗在马拉硫磷溶液

中浸泡 10 min, 晾干, 喂食东亚飞蝗。

(2) 取东亚飞蝗, 分用药组和对照组, 各 15 只, 用药组以浸泡马拉硫磷的麦苗喂食, 对照组以新鲜麦苗喂食。在胃毒作用时间为 24、48 h 分别取 5 只东亚飞蝗处死后进行下一步操作。

1.4 蝗虫消化道形态学观察

(1) 蝗虫处死后, 用卡诺氏固定液(无水乙醇: 氯仿: 冰醋酸 = 6: 3: 1 [V/V]) 固定(≤ 24 h), 95% 乙醇浸洗后解剖, 分取蝗虫嗉囊、食道、前肠、中胃、回肠、结肠等部位, 用 75% 乙醇溶液于 4℃ 保存。

(2) 蝗虫消化道各组织部位经 80% 乙醇浸洗后, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明处理, 浸蜡, 包埋。

(3) 对塑化石蜡包埋块进行连续切片, 厚度为 4~6 μm , 并在 45℃ 预热的洁净载玻片上展片, 60℃ 烤箱中 2 h 使蜡带贴附牢固。

(4) HE 染色: 参考常规 HE 染色方法, 考虑蝗虫消化道组织体积微小, 在染色过程中容易掉片, 且各组织嗜染性不同等特性, 在试验过程中对操作进行了适当调整以获得满意的染色效果。

(5) 光学显微镜下观察其内部结构, 显微数码相机拍摄。

2 结果与分析

2.1 嗉囊

嗉囊位于东亚飞蝗的前胸节, 约 5~6 mm, 主要功能是暂时性贮存食物和初消化。浸有马拉硫磷的麦苗食入后, 随着在嗉囊内作用时间的延长, 嗉囊内壁厚度逐渐减小, 柔韧性减弱; 嵴的排列变得不再规则, 单层立方上皮细胞不再呈扁形, 内部黑色颗粒明显增多; 上皮层覆盖的几丁内膜完整性被破坏, 同时内膜上的几丁质齿难以辨别(图 1)。

2.2 前胃

前胃位于中、后胸节, 是前肠的最末一段, 具有贮藏食物和研磨食物的功能。马拉硫磷进入前胃后能够作用于内膜上的几丁质齿, 并破坏内膜的完整性; 透过内膜对前胃内部纵行嵴的单层长方形矮柱状上皮细胞具有致死作用; 随作用时间延长, 马拉硫磷能够导致内壁凸起腔内的纵肌坏死, 染色呈黑色; 此外, 马拉硫磷对嵴外侧环肌层细胞同样具有杀死作用, 破坏环肌层的完整性(图 2)。

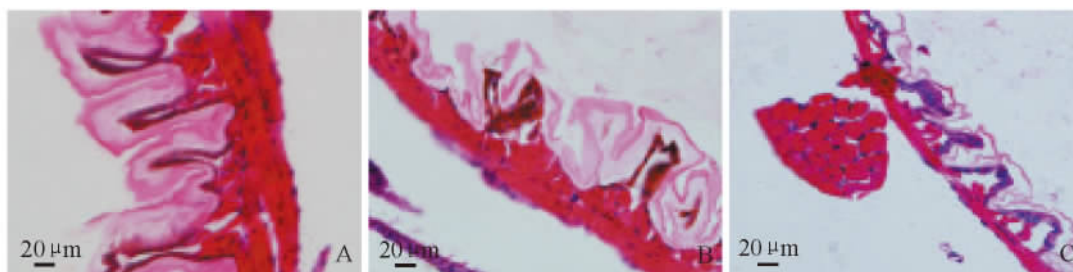


图1 马拉硫磷对东亚飞蝗嗉囊影响的形态学观察

Fig.1 Morphology of crop in *Locusta migratoria manilensis* fed with or without Malathion

A:对照;B:喂食给药作用 24 h;C:喂食给药作用 48 h(40 ×)。

A: control; B: fed with Malathion for 24 h; C: fed with Malathion for 48 h.

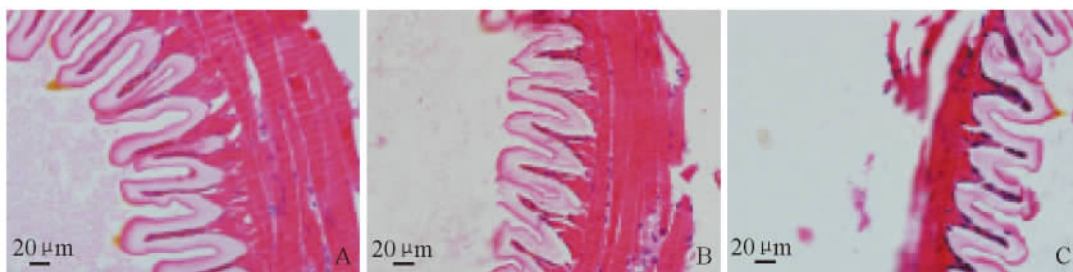


图2 马拉硫磷对东亚飞蝗前胃影响的形态学观察

Fig.2 Morphology of proventriculus in *Locusta migratoria manilensis* fed with or without Malathion

A:对照;B:喂食给药作用 24 h;C:喂食给药作用 48 h(40 ×)。

A: control; B: fed with Malathion for 24 h; C: fed with Malathion for 48 h.

2.3 胃盲囊

胃盲囊是中肠前端肠壁向外凸起而形成的盲管,具有增大中肠贮藏食物和吸收面积的功能。胃盲囊内壁有许多纵形嵴,但没有几丁质内膜,马拉硫磷作用后单层长方形上皮细胞形状不再规则,上皮层表面的绒毛膜被破坏;消化细胞、再生细胞坏死,染色呈现黑色;在作用 48 h 后,环肌层和单层纵肌坏死严重,胃盲囊内纵行嵴明显缩小

(图 3)。

2.4 中肠

中肠(胃)是蝗虫消化器官中很重要的部分,由内胚层形成。中肠内壁光滑,但其组织构造较为复杂,从内向外依次可以分为围食膜、消化细胞、再生细胞、环肌层和纵肌层等,无几丁质内膜。马拉硫磷作用对上皮层的消化细胞具有明显的致死作用,细胞核内染色质呈现黑色颗粒状,但对消

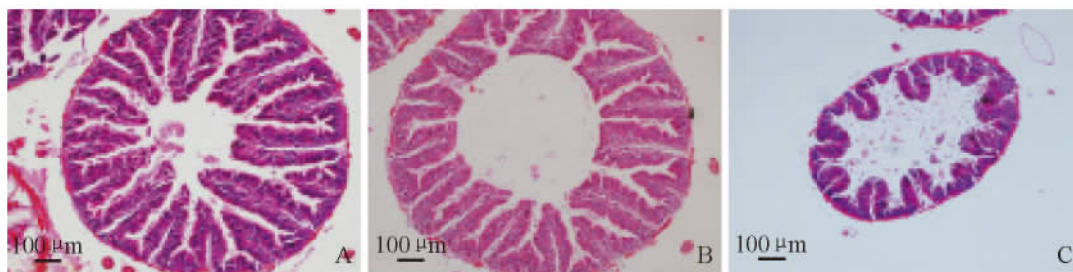


图3 马拉硫磷对东亚飞蝗胃盲囊影响的形态学观察

Fig.3 Morphology of gastric caecum in *Locusta migratoria manilensis* fed with or without Malathion

A:对照;B:喂食给药作用 24 h;C:喂食给药作用 48 h(40 ×)。

A: control; B: fed with Malathion for 24 h; C: fed with Malathion for 48 h.

化细胞的冠状排列及顶端的微绒毛形态影响并不明显。上皮细胞基部的再生细胞同样受到了马拉硫磷的毒杀,使其失去了对消化细胞的补充作用。

作用时间延长至 48 h 时,马拉硫磷还能够导致中肠纵肌层和环肌层细胞的死亡,肌肉组织坏死,韧性减退,失去完整性(图 4)。



图 4 马拉硫磷对东亚飞蝗中肠影响的形态学观察

Fig. 4 Morphology of midgut in *Locusta migratoria manilensis* fed with or without Malathion

A: 对照; B: 喂食给药作用 24 h; C: 喂食给药作用 48 h (40 ×)。

A: control; B: fed with Malathion for 24 h; C: fed with Malathion for 48 h.

2.5 回肠

回肠为蝗虫后肠前端的一部分,内壁有隆起的内嵴,上皮层是由单层上皮细胞所组成,上皮细胞内覆有几丁质内膜,在内膜上有许多几丁质小刺。马拉硫磷的作用对上皮、结缔组织、肌肉层和

马氏管的细胞具有毒杀作用,染色呈现黑色,且能够导致内嵴明显缩小,固有层变薄;作用 48 h 后几丁质内膜完整性被破坏,与上皮细胞之间的粘连变得非常松散(图 5)。

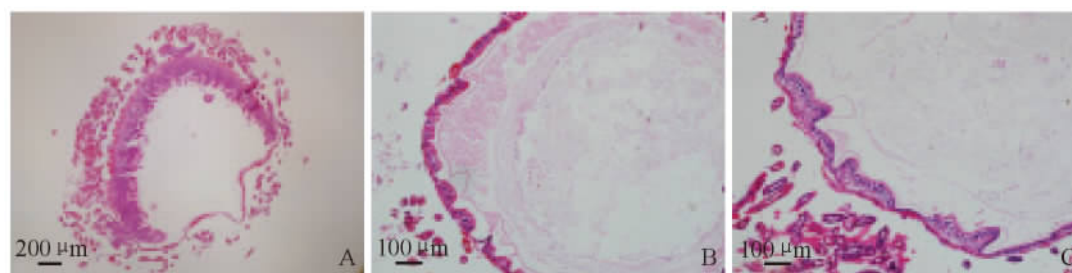


图 5 马拉硫磷对东亚飞蝗回肠影响的形态学观察

Fig. 5 Morphology of ileum in *Locusta migratoria manilensis* fed with or without Malathion

A: 对照; B: 喂食给药作用 24 h; C: 喂食给药作用 48 h (10 ×)。

A: control; B: fed with Malathion for 24 h; C: fed with Malathion for 48 h.

2.6 结肠

结肠是后肠 S 形转折处,呈曲折状,内壁有 11~12 个嵴,嵴较高,嵴与嵴之间形成深沟。结肠内层为几丁质的内膜,内膜上生有几丁质小刺,内膜外层是单层立方上皮细胞,上皮层下依次是较为发达的固有层、纵肌层、环肌层。马拉硫磷对结肠形态结构具有明显影响,能够破坏内膜和几丁质小刺的完整性,对上皮细胞有致死作用,细胞核染色呈黑色;长时间作用可以导致纵肌层和环肌层坏死,并松散解体(图 6)。

2.7 直肠

直肠紧接结肠,是消化道的最后一段,然而马拉硫磷对直肠的形态结构也有一定的影响。马拉硫磷对直肠垫的完整性影响并不显著,但对上皮层和疏松结缔组织细胞具有较强的毒杀作用。此外,其毒性作用还能达到外侧的环肌组织(图 7)。

3 讨论

近年来,随着对蝗虫自身研究的不断深入,人们对蝗虫的认识水平在不断提高,但蝗虫灾害仍

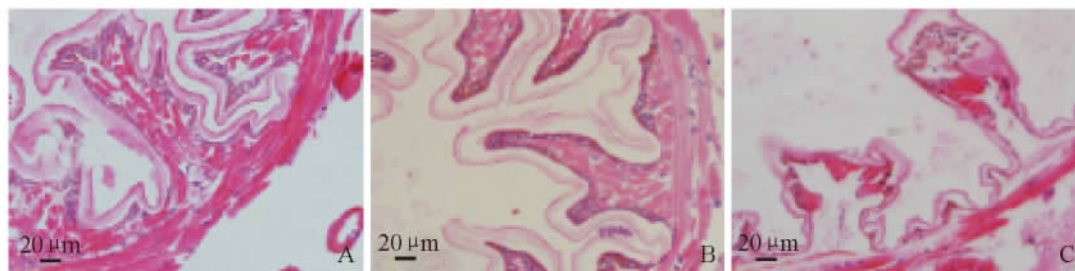


图 6 马拉硫磷对东亚飞蝗结肠影响的形态学观察

Fig. 6 Morphology of cecum in *Locusta migratoria manilensis* fed with or without Malathion

A: 对照; B: 喂食给药作用 24 h; C: 喂食给药作用 48 h (40 ×)。

A: control; B: fed with Malathion for 24 h; C: fed with Malathion for 48 h.

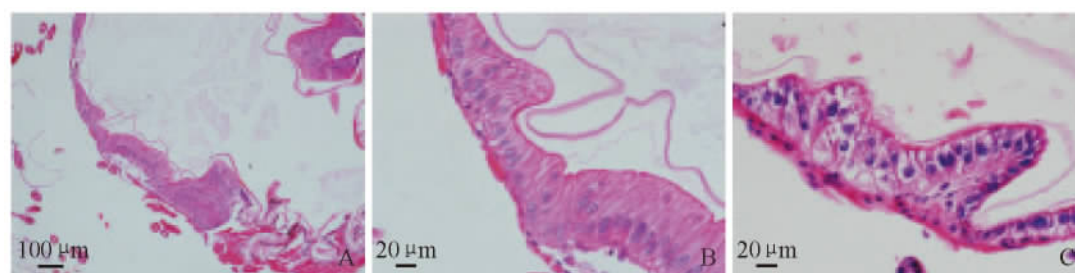


图 7 马拉硫磷对东亚飞蝗直肠影响的形态学观察

Fig. 7 Morphology of rectum in *Locusta migratoria manilensis* fed with or without Malathion

A: 对照; B: 喂食给药作用 24 h; C: 喂食给药作用 48 h (40 ×)。

A: control; B: fed with Malathion for 24 h; C: fed with Malathion for 48 h.

然严重威胁着我国内陆各淡水湖泊、草原等区域的农牧业生态安全。当前,蝗虫防治有多种方法,如农业防治、生物防治、化学防治等。受产品稳定性、田间技术支持、应急响应效率等因素的限制,农业防治和生物防治对大规模蝗灾的治理受到一定的限制,我国还是以化学农药防治为主。

深入研究农药对蝗虫的致死作用是探索蝗虫防治新方法、研究开发新型农药的重要途径。马拉硫磷是一种广泛使用的低毒有机磷农药,对蝗虫具有较好的杀灭活性,目前人们在马拉硫磷对蝗虫种群遗传分化、生态及环境问题等方面的影响进行了较多的研究(卢芙蓉等,2004;郑先云等,2005;李耀发等,2010)。本文中则对马拉硫磷对东亚飞蝗消化道的形态学影响进行了形态学研究。消化道是蝗虫赖以生存的最重要器官之一,对马拉硫磷与消化道影响的研究有助于更深入的了解和认识马拉硫磷对蝗虫的杀灭机理,具有重要意义。

对蝗虫消化道的研究始于 20 世纪初,一直是研究的热点问题之一,国内外学者都对蝗虫消化

道组织结构、功能和消化过程、形态发生以及形态比较和分类价值各个方面进行了较为系统的研究(Tietz, 1923;郑哲民和席碧侠, 1996;张小民等, 2006,2007)。本研究针对东亚飞蝗消化道的食管(食管、前胃)、中肠(胃盲囊、中肠)和后肠(回肠、结肠、直肠)不同部位,研究了马拉硫磷经喂食给药后对消化道形态学的影响。结果表明,从前胸节的食管到消化道最后的结肠,马拉硫磷对不同部位均能造成形态学的显著改变,主要病理变化包括几丁质齿和内膜完整性被破坏、上皮细胞死亡、消化细胞死亡、肌肉组织细胞死亡等,并导致纵肌、环肌、结缔组织等的病变和坏死,且马拉硫磷对东亚飞蝗消化道形态学的影响随着作用时间的延长而明显加剧。因此,马拉硫磷对东亚飞蝗的杀灭活性在消化道前后的各个部位均起作用,可以影响到东亚飞蝗对食物贮存、研磨、消化、养分吸收的每一个环节,并有时依赖性,最终导致蝗虫的死亡。

本文研究结果是蝗虫防治研究中的一个重要

方面,对以马拉硫磷类农药的研究和蝗虫防治都具有一定的理论指导意义。马拉硫磷经消化道后对东亚飞蝗体内其他组织、器官的影响研究正在进行中。

参考文献(References)

- Tietz V, 1923. The anatomy of the digestive system of the *Carolina locust* (*D. carolina* Linn). *Ann. Ent. Soc. Amer.*, 16(3):256—273.
- 陈永林, 2000. 中国的飞蝗研究及其治理的主要成就. 昆虫知识, 37(1):50—59.
- 李耀发, 党志红, 高占林, 潘文亮, 2010. 河北省白洋淀蝗区防治蝗虫替代药剂研究. 河北农业科学, 14(8):86—88.
- 刘玲, 郭安红, 2006. 2004 年内蒙古草原蝗虫大发生的气象生态条件分析. 气象, 3(11):55—57.
- 卢芙萍, 李翠兰, 段毅豪, 郭亚平, 马恩波, 2004. 马拉硫磷对中华稻蝗等位酶基因型的致死作用. 山西大学学报(自然科学版), 27(2):178—181.
- 任春光, 李虎群, 张小龙, 2005. 东亚飞蝗持续大发生非自然因素探讨. 植物保护, 31(6):75—77.
- 汪建沃, 2011. 蝗虫成灾的主要原因及其综合防治技术. 农药市场信息, 19:43.
- 张小民, 郭亚平, 马恩波, 2007. 蝗虫消化道结构的比较研究. 动物分类学报, 32(3):643—648.
- 张小民, 郭亚平, 许晶, 马恩波, 2006. 中华稻蝗全消化道内壁显微结构观察. 昆虫学报, 49(2):219—229.
- 郑先云, 党莉, 郭亚平, 贺艳萍, 马恩波, 2005. 马拉硫磷对东亚飞蝗不同种群遗传结构的分化研究. 农业环境科学学报, 24(3):567—571.
- 郑哲民, 席碧侠, 1996. 蝗虫前肠形态及分类学价值的研究 I. 癩蝗科、瘤锥蝗科和锥头蝗科. 陕西师范大学学报(自然科学版), 24(4):61—67.