

网络出版时间:2015-03-12 14:17 DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2015.04.002
网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20150312.1417.002.html

花绒寄甲巨型昆虫围心细胞的扫描电镜观察

王吉申,崔俊,刘忆玲,丁申,欧万发,李孟楼

(西北农林科技大学 林学院,陕西 杨凌 712100)

【摘要】【目的】研究花绒寄甲围心细胞形态、数量和分布特点,为了解其结构和功能提供基础。【方法】以经多代繁育的花绒寄甲幼虫、蛹和成虫为材料,用扫描电镜对其心脏和巨型围心细胞形态进行解剖观察。【结果】花绒寄甲的背血管属于直管型,心脏起始于第2腹节,心脏表面覆盖着纵向的心包膜肌肉,心脏由6个心室组成,每个心室两侧分别整齐排列着5~7对巨型围心细胞,直径达 $(114.2 \pm 3.9) \mu\text{m}$ 。花绒寄甲幼虫、蛹和成虫期围心细胞的数量和形态无显著差异,围心细胞与心室接触表面的空隙处存在大量血细胞。【结论】花绒寄甲的围心细胞在胚胎期可能已完成了所有的分化和发育,具备了完整的功能。

【关键词】花绒寄甲;心脏;围心细胞;超微结构

【中图分类号】 S763

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2015)04-0123-05

SEM study of the giant pericardial cells of *Dastarcus helophoroides*

WANG Ji-shen, CUI Jun, LIU Yi-han, DING Shen, OU Wan-fa, LI Meng-lou

(College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 Research on the morphology, amount and distribution characteristics of pericardial cells in *Dastarcus helophoroides*, can provide the basis for understanding their structure and function better. 【Method】 The heart and pericardial cell were dissected from larvae, pupae and adults *Dastarcus helophoroides* and then were investigated using scanning electron microscopy. 【Result】 The dorsal vessel of *Dastarcus helophoroides* was a straight tube. The heart covered by a muscular tube located directly below the dorsal cuticle began from the second abdominal uromere, and it consisted 6 ventricles with 5—7 pericardial cells located alongside each heart ventricle and alary muscles displaying ramifications that extend from the body wall to the heart surface. The diameter of the pericardial cells was $(114.2 \pm 3.9) \mu\text{m}$, and the morphology, amount of pericardial cells from larvae, pupae and adults *Dastarcus helophoroides* had no significant difference. 【Conclusion】 The result indicates that the differentiation and development of pericardial cells of *Dastarcus helophoroides* are completed during embryonic period, and possesse integrated function.

Key words: *Dastarcus helophoroides*; heart; pericardial cell; ultrastructure

花绒寄甲(*Dastarcus helophoroides* (Fairmaire))隶属于穴甲科(Bothrideridae),分布于中国和日本,是天牛的重要天敌^[1-2]。用花绒寄甲防治天牛具有对环境安全、防治效果显著、控害周期长等优点。

有关花绒寄甲的生物学特性、人工饲养及其对多种天牛的防治效果已有研究报道^[3-6]。随着花绒寄甲释放和利用技术的完善与成熟,有关其在天牛防治上的应用研究发展迅速^[7-10]。提高花绒寄甲的

【收稿日期】 2013-12-02

【基金项目】 国家自然科学基金项目(31170608);2012年国家级大学生科技创新项目“羟基马桑毒素对花绒寄甲围心细胞超微结构的影响”(1210712046)

【作者简介】 王吉申(1991—),男,云南永德人,西北农林科技大学林学院森林保护专业2010级本科生。

【通信作者】 李孟楼(1957—),男,陕西富平人,教授,博士生导师,主要从事森林害虫防治及杀虫剂毒理研究。

饲养效率、保持饲养种群的质量成为目前需要解决的问题之一,西北农林科技大学林学院森林害虫生物防治实验室饲养的部分花绒寄甲成虫寿命已达 9 年以上,但仍具备一定的生殖力,分析花绒寄甲体内器官的解剖结构特征,对更加有效地饲养和利用花绒寄甲具有重要意义。

在昆虫的开放型循环系统中,围心细胞是一种重要的吞噬细胞(Athrocytes),其又称为肾原细胞(Nephrocytes)、背肾细胞,具有类似于肝脏细网内皮系统的作用,含有正铁血红素、胆绿素,可吞噬带有负电荷的胶体,具有调节昆虫血淋巴中物质平衡、清除血淋巴中有毒物质的功能^[11-13]。Das 等^[14]采用细胞凋亡的方式去除果蝇围心细胞后,发现其寿命和抗药性显著降低。本研究在前期的解剖试验中发现,花绒寄甲成虫背血管两侧整齐排列着索状的巨型围心细胞(Pericardial cell,PCs),但其他昆虫的围心细胞排列不整齐,且常难以辨别。为探讨花绒寄甲这种细胞是否与其维持长寿命有关,本研究对花绒寄甲的心脏及围心细胞进行了扫描电镜观察,以期深入了解其细胞结构和功能提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 试 虫

花绒寄甲成虫、幼虫和蛹由西北农林科技大学林学院森林昆虫实验室提供,1998 年 3 月和 7 月自中国陕西省武功县采集花绒寄甲成虫,并分别繁育和饲养至今,饲养室日均温为 $(22.35 \pm 4.72)^\circ\text{C}$,16 h 光照/8 h 黑暗。幼虫接种于替代寄主饲养,成虫饲喂人工饲料^[4,15]。选择个体大小一致的花绒寄甲幼虫、蛹和成虫各 20 头用于试验。

1.2 试虫处理及围心细胞的解剖

在解剖镜下分别解剖花绒寄甲幼虫、蛹和成虫。配制 1 mol/L、pH 7.2 磷酸缓冲液作为解剖液。用昆虫针将成虫固定于蜡盘上,在解剖液中用手术刀去除成虫腹板,用磷酸缓冲液冲洗,去除腹部器官、脂肪体和血淋巴后,将含背血管和围心细胞的背部组织放入体积分数 2.5%戊二醛固定液中于 4°C 下固定备用。

用昆虫针将幼虫或蛹固定于蜡盘上,在解剖液中用手术刀沿体侧剖开虫体,用昆虫针固定表皮,露出试虫内部组织,用磷酸缓冲液小心冲洗,去除腹部器官、脂肪体和血淋巴,用剪刀去除背板以外其他表皮部分,将含背血管和围心细胞的背部组织放入体积分数 2.5%的戊二醛固定液中,于 4°C 下固定备

用。

1.3 围心细胞解剖样品的扫描电镜观察

将 1.2 中的围心细胞解剖材料用 0.1 mol/L pH 7.2 磷酸缓冲液漂洗 4 次后,置于体积分数 1% 锇酸中, 4°C 下固定 2 h,再用 0.1 mol/L、pH 7.2 磷酸缓冲液漂洗 3 次;然后依次用体积分数 30%, 50%, 75%, 80%, 90% 和 100% 的乙醇各脱水 1 次,体积分数 100% 丙酮脱水 2 次;用乙酸异戊酯置换丙酮 2 次后,利用 CO_2 在其临界温度(31.26°C)下干燥。将样品在真空离子镀膜仪内喷镀 10~20 nm 的金薄膜,然后置于扫描电子显微镜下观察并拍照。

2 结果与分析

2.1 花绒寄甲成虫心脏的解剖观察

花绒寄甲的背血管包括头部大血管(Cephalic aorta)、胸部大血管(Thoracic aorta)和心脏(Heart) 3 段(图 1)。扫描电镜观察结果表明,花绒寄甲成虫的背血管属于直管型(图 2-A);心脏起始于第 2 腹节,心脏表面的心包膜由纵向心包膜肌肉和结缔组织构成,心脏由 6 个心室组成($v1 \sim v6$),每个心室两侧分别排列着 5~7 对巨型围心细胞,翼状肌和心脏两侧的 5~7 对巨型围心细胞与心脏表面粘连(图 2-A,B);围心细胞分布于背血管两侧,整齐排列成索状(图 1,图 2-A);心脏的每个小室前端有 1 个小管突进前面的心室,形成小室间的瓣膜(图 2-C);每个心室末端有心门,提供血淋巴进入心脏的通道(图 2-D)。

2.2 花绒寄甲幼虫、蛹和成虫围心细胞的解剖观察

花绒寄甲成虫各心室两侧整齐排列着由一束比翼状肌牵引的 5~7 对巨型围心细胞,细胞饱满,呈球形,直径为 $(114.2 \pm 3.9) \mu\text{m}$,翼状肌丝端部陷进围心细胞表面(图 3-A,B);动脉两侧的围心细胞呈不规则的扁长圆状,由结缔组织将其与动脉表面相连接,从而附着在动脉两侧(图 3-C)。围心细胞与心室接触的表面有很多形状和大小不一的突起,从而在接触处形成了大小不一的孔洞,孔洞间可见血细胞(图 3-D,E);围心细胞表面的这些突起则深入到心室表面的结缔组织(心包膜)中(图 3-F)。花绒寄甲幼虫、蛹的心脏及围心细胞形态与成虫没有差异(图 4),幼虫的围心细胞直径为 $(141.1 \pm 2.3) \mu\text{m}$,蛹的围心细胞直径为 $(79.4 \pm 4.2) \mu\text{m}$ 。由此可见,围心细胞可能在代谢功能上与血淋巴有关,也可能与血淋巴的新陈代谢及心室的物质交换相关。

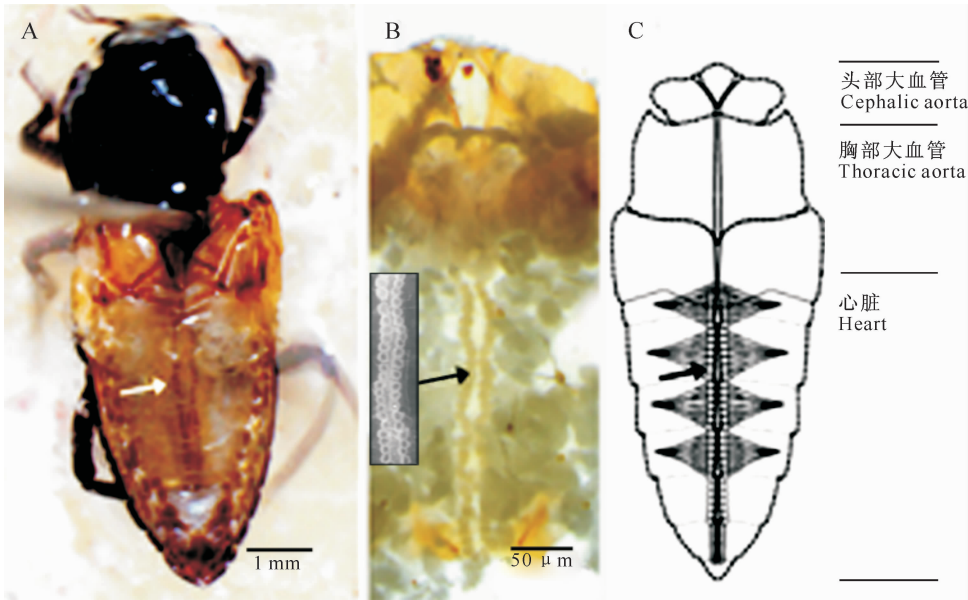


图 1 花绒寄甲成虫的腹部背血管及围心细胞

A. 成虫背板;B. 成虫心脏和围心细胞;C. 背血管模式图;箭头所示为围心细胞所在位置

Fig. 1 The dorsal vessel and pericardial cell in abdominal of adult *D. helophoroides*

A. The tergum of *D. helophoroides* adult;B. The heart and pericardial cell of *D. helophoroides* adult;

C. The mode pattern of dorsal vessel;Arrowhead. The location of pericardial cell

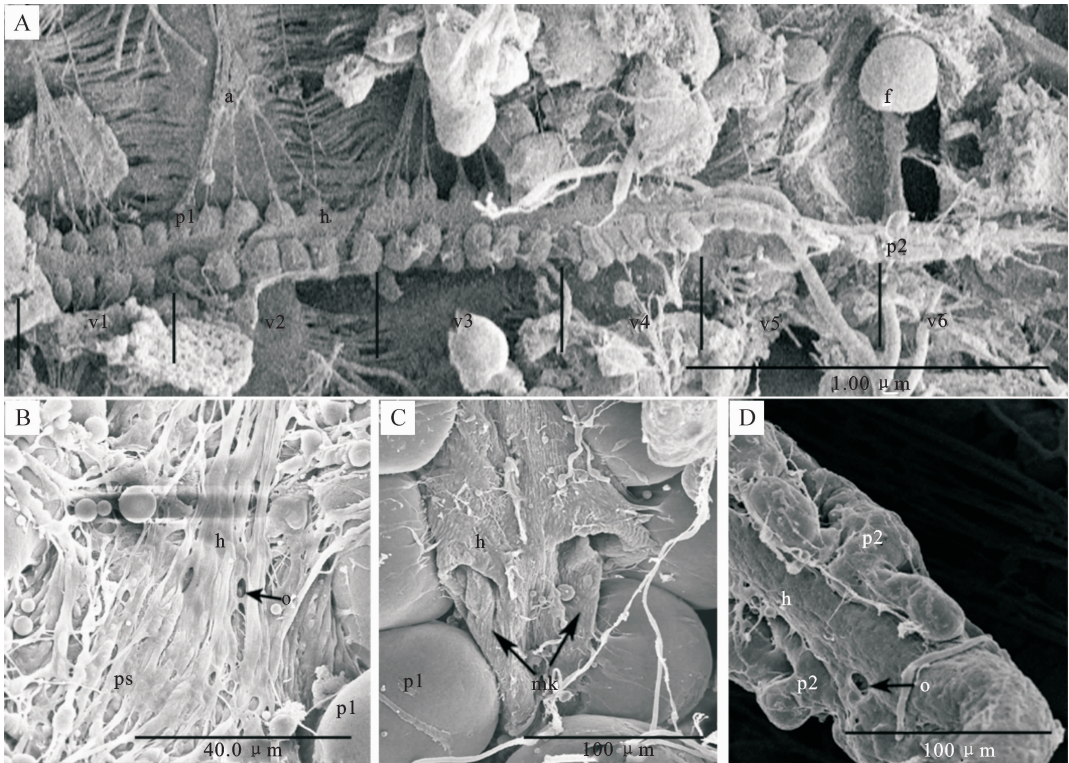


图 2 花绒寄甲成虫心脏的扫描电镜观察

A. 直管型心脏;B. 心脏表面心包膜的纵向肌肉;C. 心脏小室的前末端;D. 心脏侧壁的心门;a. 翼状肌;f. 脂肪体;mk. 瓣膜;h. 心脏;o. 心门;p1. 心室侧的巨型围心细胞;p2. 动脉侧围心细胞;ps. 心包膜;v1~v6. 心室

Fig. 2 SEM images of the heart of adult *D. helophoroides*

A. The tubular heart;B. Heart covered by longitudinal muscles of pericardial septum;C. The extreme of heart ventricle;D. The ostium of the heart wall;a. Alary muscles;f. Fat body;mk. Valve;h. Heart;o. Ostium;p1. The big pericardial cells alongside the heart ventricle; p2. The pericardial cells alongside the artery;ps. Pericardium;v1—v6. 6 different ventricular

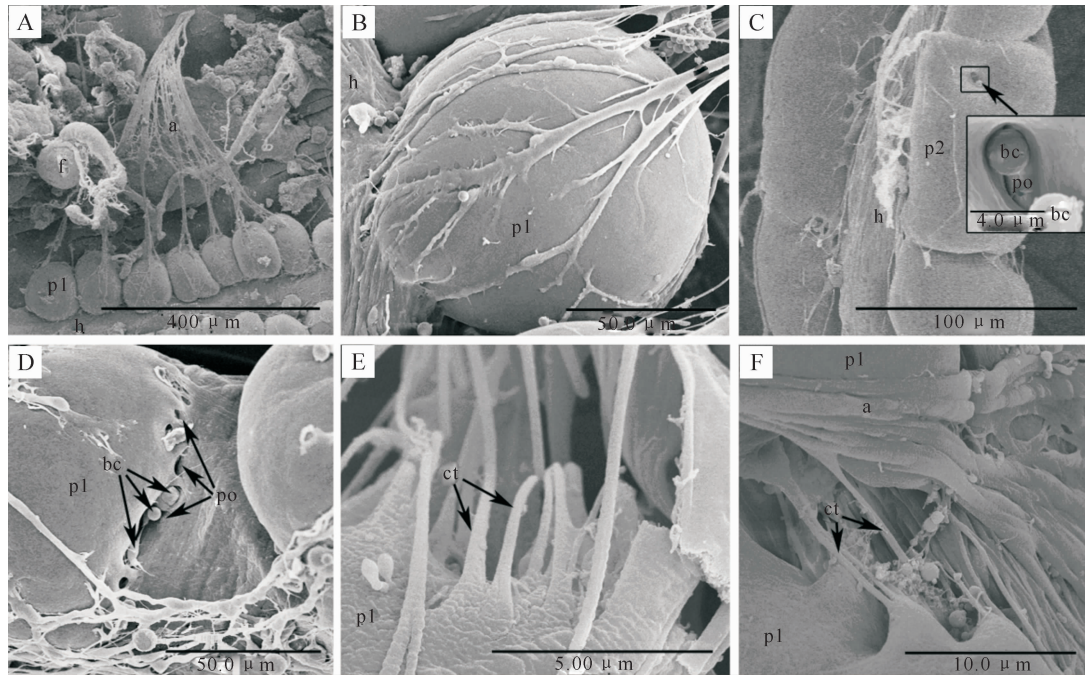


图 3 花绒寄甲成虫围心细胞的扫描电镜观察

A. 每个心室旁的围心细胞; B. 第 2 心室旁的 p1 型围心细胞; C. 第 5 心室旁的 p2 型围心细胞; D. 围心细胞上的血细胞和供血细胞进出的孔洞; E. 围心细胞与心室接触处的乳状或梁状突起; F. 围心细胞突起与心室表面的连接; h. 心脏; p1. 心室侧的巨型围心细胞; p2. 动脉侧围心细胞; a. 翼状肌; f. 脂肪体; bc. 血细胞; po. 围心细胞上的孔洞; ct. 围心细胞的突起

Fig. 3 SEM images of the pericardial cells of adult *D. Helophoroides*

A. Pericardial cells located alongside each heart ventricle; B. The P1 type pericardial cell alongside the second heart ventricle; C. The P2 type pericardial cell alongside the fifth heart ventricle; D. Some ostias on the pericardial cells for the turnover of hemocytes; E. The mastoid or beam process between pericardial cell and heart ventricle; F. The connection between pericardial cell and heart ventricle; h. Heart; p1. The big pericardial cells alongside the heart ventricle; p2. The pericardial cells alongside the artery; a. Alary muscles; f. Fat body; bc. Blood cell (hemocytes); po. The ostias on pericardial cell; ct. The connective tissue sheath on pericardial cell

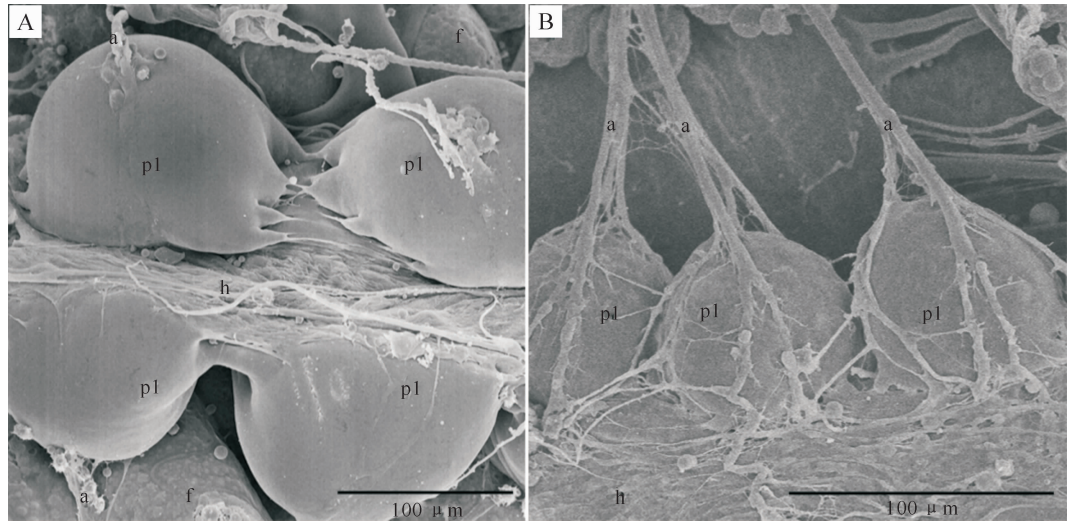


图 4 花绒寄甲幼虫和蛹心脏及围心细胞的扫描电镜观察

A. 幼虫; B. 蛹; p1. 心室侧的巨型围心细胞; a. 翼状肌; h. 心脏; f. 脂肪体

Fig. 4 SEM images of the pericardial cells of *D. helophoroides* larva and pupa

A. Larva heart; B. Pupa heart; p1. The big pericardial cells alongside the heart ventricle; a. Alary muscles; h. Heart; f. Fat body

3 讨论

对果蝇心脏发育的研究发现,不同发育阶段试虫的围心细胞数量存在很大差异;在胚胎期,沿背血管有120~130个围心细胞分布,而到了成虫期则只有40~50个围心细胞^[16-17];那些消失的围心细胞在成虫期分化成为其他细胞,其中8个分化成为翼心脏细胞(Wing hearts)^[18],其余的分化成为与心脏相关的肾原细胞(Nephrocytes)^[14,19-20]。与上述研究结果不同,本研究发现,花绒寄甲幼虫、蛹和成虫围心细胞的数量和形态无显著差异。而Shah等^[21]认为,果蝇胚胎期围心细胞与成虫期围心细胞的超微结构相似,表明其在胚胎分化早期已经具备所有的功能。因此推测,花绒寄甲的围心细胞在胚胎期就完成了所有的分化和发育,具备了完整的功能。

前人在研究中发现,果蝇、蜜蜂等昆虫的围心细胞均是镶嵌在翼状肌中的独立悬浮细胞,其基部未与心脏表面连接,不参与昆虫心脏的形态发育,只具有肾原细胞功能,吞噬和清除血淋巴中的杂质和毒素^[14,22]。而在鞘翅目七星瓢虫(*Coccinella septempunctata*)围心细胞的细胞质中检测到了神经分泌物质的存在,表明围心细胞是神经血器官附件,具有神经分泌功能^[23]。本研究发现,花绒寄甲的p1型围心细胞表面的突起深入到心脏表面的结缔组织(心包膜)中,且围心细胞表面存在不同形状和大小的孔洞,可能是分泌物质进出的通道。另外,果蝇^[12]、蚊^[13]、弄蝶^[24]、烟草天蛾^[25]等昆虫的围心细胞直径仅为25~80 μm,且未与心脏直接连接。本研究中花绒寄甲p1型围心细胞直径达(114.2±3.9) μm,显然属于特大型昆虫围心细胞,p1型围心细胞与心室接触表面的空隙处存在大量血细胞。花绒寄甲p1型围心细胞的生理功能及其与血淋巴新陈代谢和心脏的物质交换之间是否存在直接关系等,还有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] Inoue E. Studies on the natural enemy of *Monochamus alternatus* hope, *Dastarcus longulus* sharp (Coleoptera: Colydiidae) [J]. Bulletin of Okayama Prefectural Forest Experiment Station, 1991, 10: 40-47.
- [2] Lim J, Oh H, Park S. First record of the family Bothrideridae (Coleoptera) in Korea represented by the wood-boring beetle ectoparasite, *Dastarcus helophoroides* [J]. Journal of Asia-Pacific Entomology, 2012, 15(2): 273-275.
- [3] 雷 琼, 李孟楼, 杨忠岐. 花绒寄甲的生物学特性研究 [J]. 西

- 北农林科技大学学报: 自然科学版, 2003, 31(2): 62-66.
- Lei Q, Li M L, Yang Z Q. A study on biological feature of *Dastarcus longulus* [J]. Journal of Northwest A&F University: Nat Sci Ed, 2003, 31(2): 62-66. (in Chinese)
- [4] 尚 梅, 苏宝锋, 李孟楼. 花绒寄甲幼虫人工饲料的研究 [J]. 西北林学院学报, 2009, 24(1): 136-139.
- Shang M, Su B F, Li M L. Fodder development for *Dastarcus helophoroides* larvae (Coleoptera: Colydiidae) [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2009, 24(1): 136-139. (in Chinese)
- [5] 魏建荣, 杨忠岐, 牛艳玲. 花绒寄甲的分布与生态学习性补充调查 [J]. 中国森林病虫, 2009, 28(1): 16-18.
- Wei J R, Yang Z Q, Niu Y L. Distribution and ecological biology of *Dastarcus helophoroides* [J]. Forest Pest and Disease, 2009, 28(1): 16-18. (in Chinese)
- [6] Ogura N, Tabata K, Wang W. Rearing of the colydiid beetle predator, *Dastarcus helophoroides*, on artificial diet [J]. Bio-control, 1999, 44(3): 291-299.
- [7] 李孟楼, 李有忠, 雷 琼. 释放花绒寄甲卵对光肩星天牛幼虫的防治效果 [J]. 林业科学, 2009, 45(4): 78-82.
- Li M L, Li Y Z, Lei Q. Biocontrol of asian longhorned beetle larva by releasing eggs of *Dastarcus helophoroides* (Coleoptera: Bothrideridae) [J]. Scientia Silvae Sinicae, 2009, 45(4): 78-82. (in Chinese)
- [8] 李孟楼, 王培新, 马 峰. 花绒寄甲对光肩星天牛的寄生效果研究 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2007, 35(6): 152-156.
- Li M L, Wang P X, Ma F. Study on the parasitic efficiency of *Dastarcus helophoroides* on *Anoplophora glabripennis* [J]. Journal of Northwest A&F University: Nat Sci Ed, 2007, 35(6): 152-156. (in Chinese)
- [9] 卢希平, 杨忠岐, 孙绪良. 利用花绒寄甲防治锈色粒肩天牛 [J]. 林业科学, 2011, 47(10): 116-121.
- Lu X P, Yang Z Q, Sun X G. Biological control of *Apriona swainsoni* (Coleoptera: Cerambycidae) by releasing the parasitic beetle *Dastarcus helophoroides* (Coleoptera: Bothrideridae) [J]. Scientia Silvae Sinicae, 2011, 47(10): 116-121. (in Chinese)
- [10] 秦瑞豪, 李孟楼, 张翌楠. 花绒寄甲防治松褐天牛最佳释放条件的筛选 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2012, 40(2): 92-96.
- Qin R H, Li M L, Zhang Y N. Screening for the release condition of *Dastarcus helophoroides* to control *Monochamus alternatus* [J]. Journal of Northwest A&F University: Nat Sci Ed, 2012, 40(2): 92-96. (in Chinese)
- [11] Poiani S B, da Cruz-Landim C. Histology and ultrastructure of pericardial cells of *Scaptotrigona postica* latreille (Hymenoptera, Apidae) in workers and queens of different ages [J]. Micron, 2007, 38(7): 766-770.
- [12] Lehmacher C, Abeln B, Paululat A. The ultrastructure of *Drosophila* heart cells [J]. Arthropod Structure & Development, 2012, 41(5): 459-474.

南京工业大学学报,2004,26(2):88-90.

Sun W, Yu B. Microanalysis of sulfitobetain [J]. Journal of Nanjing University of Technology, 2004, 26 (2) : 88-90. (in Chinese)

[25] 李文德,周俊侠,张力田. 改进的酚酞分光光度法测定 β -环糊精 [J]. 华南理工大学学报:自然科学版,1995,23(7):35-39.

Li W D,Zhou J X,Zhang L T. Determination of β -cyclodextrin by modified phenolphthalein spectrophotometric methods [J]. Journal of South China University of Technology:Natural Science,1995,23(7):35-39. (in Chinese)

.....

(上接第 127 页)

[13] Brockhouse A C, Horner H T,Booth T F. Pericardial cell ultrastructure in the tobacco hornworm *Manduca sexta* L. (Lepidoptera:Sphingidae) [J]. International Journal of Insect Morphology & Embryology,1999,28(4):261-271.

[14] Das D,Aradhya R,Ashoka D. Post-embryonic pericardial cells of *Drosophila* are required for overcoming toxic stress but not for cardiac function or adult development [J]. Cell and Tissue Research,2008,331(2):565-570.

[15] 雷 琼,陈建锋,黄 娜. 花绒坚甲成虫人工饲料的筛选研究 [J]. 中国农学通报,2005,21(3):259-271.

Lei Q,Chen J F,Huang N. Aritificial fodder ingredience for *Dastarcus longulus* adults [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin,2005,21(3):259-271. (in Chinese)

[16] Alvarez A D,Shi W Y,Wilson B A. Pannier and pointed P2 act sequentially to regulate *Drosophila* heart development [J]. Development,2003,130(13):3015-3026.

[17] Sellin J,Albrecht S,Kolsch V. *Dynamics* of heart differentiation,visualized utilizing heart enhancer elements of the *Drosophila melanogaster* bHLH transcription factor Hand [J]. Gene Expression Patterns,2006,6(4):360-375.

[18] Togel M,Pass G,Paululat A. The *Drosophila* wing hearts originate from pericardial cells and are essential for wing maturation [J]. Developmental Biology,2008,318(1):29-37.

[19] Das D,Ashoka D,Aradhya R. Gene expression analysis in post-embryonic pericardial cells of *Drosophila* [J]. Gene Expression Patterns,2008,8(3):199-205.

[20] Weavers H,Prieto-Sanchez S,Grawe F. The insect nephrocyte is a podocyte-like cell with a filtration slit diaphragm [J]. Nature,2009,457(7227):322-326.

[21] Shah A P,Nongthomba U,Tanaka K K K. Cardiac remodeling in *Drosophila* arises from changes in actin gene expression and from a contribution of lymph gland-like cells to the heart musculature [J]. Mechanisms of Development,2011,128(3/4):222-233.

[22] Fujioka M,Wessells R J,Han Z. Embryonic even skipped-dependent muscle and heart cell fates are required for normal adult activity,heart function,and lifespan [J]. Circulation Research,2005,97(11):1108-1114.

[23] Ray A,Kumar D,Ramamurty P S. Histological study on the retrocerebral-endocrine complex with special reference to neurohaemal involvement of aorta and pericardial cells in *Coccinella septempunctata* (L.) (Coccinellidae-Coleoptera) [J]. Zeitschrift für Mikroskopisch-anatomische Forschung,1980,94(6):1141-1148.

[24] Martins G F,Ramalho-Ortigão J M,Filemon P. Morphological features of the heart of six mosquito species as revealed by scanning electron microscopy [J]. International Journal of Tropical Insect Science,2011,31(1/2):98-102.

[25] Fife H G,Palli S R,Locke M. A function for pericardial cells in an insect [J]. Insect Biochemistry,1987,17(6):829-840.