

DOI:10.12403/j.1001-1498.20220253

云杉花墨天牛雌成虫卵巢发育的研究

王 珺, 范立淳, 王伟韬, 郑雅楠*

(沈阳农业大学林学院, 辽宁 沈阳 110866)

摘要: [目的] 明确云杉花墨天牛雌成虫羽化后至性成熟的发育历期, 及取食和交配行为对雌成虫卵巢发育的影响。[方法] 采集云杉花墨老熟幼虫在室内饲养至羽化, 将初羽化 1 日龄的雌成虫分别用 4 种方式处理: 1) 单独饲养; 2) 单独饲养但不饲养; 3) 与雄成虫一起饲养; 4) 与雄成虫一起饲养但不饲养。每日连续剖检雌成虫卵巢直至观察到雌成虫卵巢萎蔫或死亡。[结果] 表明: 1) 云杉花墨天牛的卵巢发育过程分为 5 级; 2) 未饲养的云杉花墨天牛雌成虫卵巢发育至第 2 级后就停止发育; 3) 饲养并交配的雌成虫卵巢在第 14 天发育成熟, 饲养但未交配的雌成虫卵巢在第 17 天发育成熟。[结论] 可见云杉花墨天牛雌成虫需进行取食后其卵巢才能正常发育至成熟。此外, 交配对雌成虫的卵巢发育具有促进作用, 使发育历期缩短 3 天。

关键词: 云杉花墨天牛; 卵巢发育; 饲养; 发育历期; 交配

中图分类号: Q969.511.4

文献标志码: A

文章编号: 1001-1498(2023)02-0101-06

云杉花墨天牛 (*Monochamus saltuarius* Gebler) 是一种危害松科植物的蛀干害虫, 在我国北方地区广泛分布^[1], 之前未见造成严重危害的报道。随着松材线虫 (*Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhrer) Nickle) 传播到辽宁, 2018 年云杉花墨天牛在我国首次被确认为松材线虫媒介昆虫, 可在中温带地区携带松材线虫传播扩散^[2-3]。主要危害红松 (*Pinus koraiensis* Sieb. et Zucc.)^[2]、油松 (*P. tabulaeformis* Carr.)、樟子松 (*P. sylvestris* var. *Mongholica* Litv.)^[4]、落叶松 (*Larix* spp.) 等多种松科植物^[5-6]。云杉花墨天牛成虫补充营养时啃食嫩枝树皮造成伤口是松材线虫主要的传播途径^[1], 该天牛在疫区的发生和危害情况会直接影响到松材线虫在林间的传播扩散, 因此对云杉花墨天牛发生情况的预测预报有着重要意义。害虫的繁殖能力是虫情预测预报的主要指标, 对雌性昆虫生殖系统尤其是卵巢进行剖检, 是研究昆虫生殖发育进度的重要技术手段, 可应用于对害

虫发生期、发生量、防治适期、发生趋势等开展预测预报^[7]。

国内外学者对昆虫的卵巢发育已有大量报道, 对鳞翅目、膜翅目和鞘翅目等多种昆虫的卵巢进行了研究^[8-9]。近六十年, 我国学者研究了草地贪夜蛾 (*Spodoptera frugiperda* Smith)^[10]、棉铃虫 (*Helicoverpa armigera* Hübner)^[11]、水稻纵卷叶螟 (*Cnaphalocrocis medinalis* Guenee)^[12]、西花蓟马 (*Frankliniella occidentalis* Pergande)^[13]、苹果蠹蛾 (*Cydia pomonella* Linnaeus)^[14] 等害虫的卵巢发育, 并提出了卵巢发育分级标准^[15]。在虫害预测预报中, 利用系统剖检卵巢发育进度预测法, 可不同程度的反映发生时间和发生量等指标^[7]。目前关于云杉花墨天牛生殖方面的研究报道较少, 本研究通过剖检云杉花墨天牛雌成虫, 明确了其生殖系统结构、初羽化后至性成熟的发育历期、卵巢发育等级, 还研究了卵巢发育进度同饲养及交配之间的关系, 首次对该天牛的生殖生理学进

收稿日期: 2022-05-17 修回日期: 2022-07-06

基金项目: 辽宁省应用基础研究计划项目 (2023JH2/101300130)

* 通讯作者: 郑雅楠, 博士, 副教授。主要研究方向: 林草有害生物可持续性控制。电话: 18640403865 Email: rockya@163.com/yanan@syou.edu.cn

行研究。更重要的是为云杉花墨天牛在我国中温带松材线虫病疫区发生情况的预测预报提供了参考,有助于科学合理地制定防治技术措施,通过防治该天牛进而阻断松材线虫病在我国中温带地区的传播途径。

1 材料与方法

1.1 供试天牛

供试天牛于2020年11月24日采集自辽宁省抚顺市大伙房实验林场林区,采集云杉花墨天牛老熟幼虫(4~5龄幼虫),将其装入指型管(5 mL)中并加入木屑带回实验室,在25℃,RH 60±5%条件下饲养至羽化。选择初羽化未取食的健康云杉花墨天牛雌成虫288头,按照表1中4种方式对雌成虫进行处理,每天解剖3头即3次重复。

1.2 解剖方法

每天选取4个不同处理的云杉花墨天牛雌成虫各取3头进行剖检,连续剖检天牛雌成虫直至观察到雌成虫卵巢萎蔫或死亡,以确定雌成虫初羽化后至性成熟的发育历期。

解剖参考李汝铎^[13]和嵇保中^[14]的方法进行,具体如下:将云杉花墨天牛雌成虫放入浓度为70%的乙醇溶液中杀死后用昆虫针将天牛背面向上固定在蜡盘上,加入0.01 mol·L⁻¹磷酸盐缓冲生理盐水(8.000 g NaCl, 2.400 g Na₂HPO₄, 0.200 g KCl, 34.023 g Na₂HPO₄·12H₂O, 蒸馏水溶解并定容至1 L,调至pH=7.2±0.2,使用时稀释10倍)浸没整个虫体,将腹部体壁剪开使露出生殖系统。再用昆虫针挑动卵巢管,切断气管和微气管,将卵巢从腹部拉出,并清除残存的脂肪体和

油脂。切断牵连卵巢的气管,将卵巢管拉出腹外,轻轻拉直,分两边固定在蜡盘上。用带测微尺的连续变倍体视显微镜(SZ810,重庆奥特光学)在30倍放大下进行观察,测量卵巢管长度和宽度并拍照。

1.3 卵巢分级方法

参照草地螟(*Loxostege sticticalis* Linnaeus)^[16]、眉斑并脊天牛(*Glenea cantor* Fabricius)^[17]、华山松大小蠹(*Dendroctonus arandi* Tsai et Li)^[18]等卵巢发育的分级依据和方法,观察云杉花墨天牛雌成虫卵巢发育形态特征,根据卵巢管内卵黄沉积情况、卵巢管形状、颜色、卵粒成熟情况作为判断依据,进而确认分级标准。

1.4 数据处理

利用SPSS 22.0, Origin 2017软件对数据进行统计处理,各数值间的差异采用Tuckey's HSD多重比较法分析。

2 结果与分析

2.1 卵巢结构

云杉花墨天牛雌成虫的生殖系统由1对卵巢、1对侧输卵管、储精囊、交配囊、生殖腔等组成(图1A)。卵巢左右并列,位于2~4腹节的侧下方,每侧卵巢有9~13条卵巢管,不同个体间卵巢管数目存在差异。每根卵巢管由端丝、卵管、卵巢管柄3部分组成(图1B)。卵巢管端丝汇成悬带,附着于邻近的脂肪体、体壁内面或背隔上,用来固定卵巢的位置。卵巢管基部即卵巢管柄以不同方位环生于圆柱形输卵管萼上,各卵巢管着生点的高度基本一致。侧输卵管连接卵巢与中输卵管,两

表1 云杉花墨天牛雌成虫羽化后的不同饲养处理

Table 1 Treatments of different feeding of emerged *Monochamus saltuarius* female adults

编号 No.	处理方式 Treatments	红松嫩枝 Twig of <i>Pinus koraiensis</i>	天牛数量/缸 Number of <i>Monochamus saltuarius</i> /glass jar	
			雌成虫 Female adults	雄成虫 Male adults
1	单独饲喂 Fed alone	√	6	0
2	单独饲养但不饲喂 Reared alone without being fed	—	6	0
3	与雄成虫一起饲喂 Fed together with male adults	√	3	3
4	与雄成虫一起饲养但不饲喂 Reared together with male adults without being fed	—	3	3

注:√红松嫩枝饲喂天牛;—不饲喂

Notes:√*Monochamus saltuarius* was fed on twig of *Pinus koraiensis*;—*Monochamus saltuarius* was not fed

条侧输卵管与中输卵管呈“Y”型。在中输卵管和外生殖器之间连接的部分有存在受精囊和受精囊腺等。整个内生殖器系统在腹腔内各节间膜处有强大的肌肉系统使之固定。

2.2 卵巢发育分级

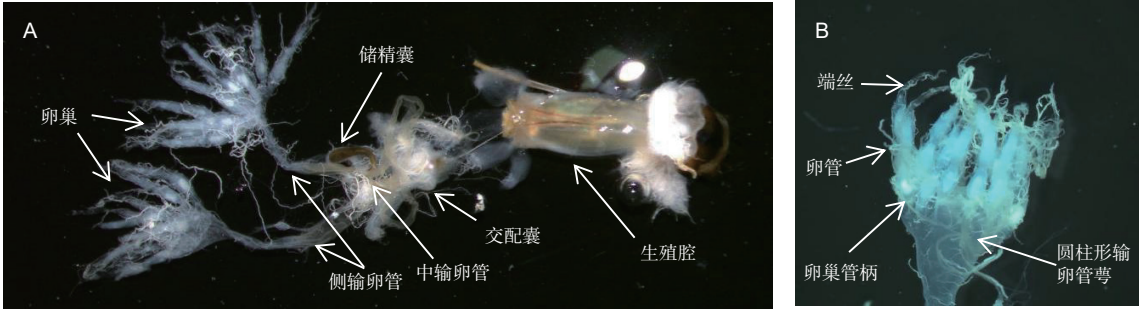
根据卵巢管内卵黄沉积情况、卵巢管形状、颜色、卵粒成熟情况作为判断依据, 将其卵巢的发育

过程分为 5 个阶段 (图 2), 具体如下:

1 级: 卵巢管呈透明状, 无卵黄沉积 (图 2A)。

2 级: 卵巢管有少量卵黄沉积 (占卵巢管 1/3 以下) (图 2B)。

3 级: 即卵巢管有大量卵黄沉积 (占卵巢管 1/3 以上) 或卵黄沉积已完成, 卵巢管内有乳白色未发育成熟的卵粒 (图 2C)。

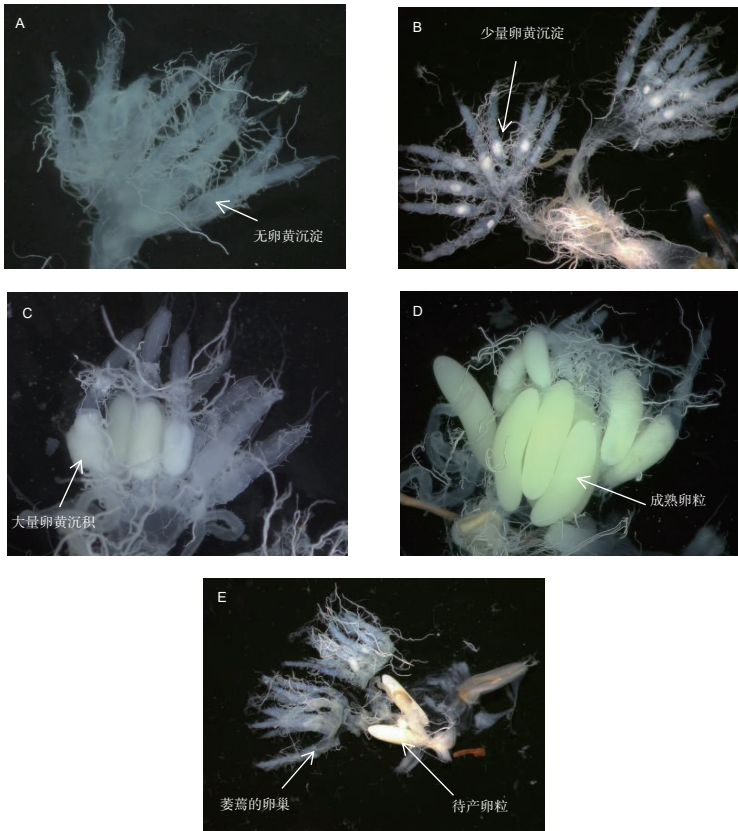


注: A: 整体结构 B: 卵巢结构

Note: A: The whole structure; B: Ovarian structure

图 1 云杉花墨天牛雌成虫内生殖系统结构

Fig. 1 Internal reproductive system structure of *Monochamus saltuarius* female adult



注: A: 1 级 B: 2 级 C: 3 级 D: 4 级 E: 5 级

Note: A: Grade 1; B: Grade 2; C: Grade 3; D: Grade 4; E: Grade 5

图 2 云杉花墨天牛雌成虫卵巢发育分级

Fig. 2 Ovarian development grade of *Monochamus saltuarius* female adults

4级：卵巢管内有淡黄色发育成熟的卵粒（图2D）。

5级：卵巢管内的部分卵粒已产出或卵巢管萎蔫（图2E）。

2.3 不同处理下卵巢发育状态

结果表明，未饲喂的云杉花墨天牛雌成虫卵巢无法正常发育至成熟，到2级后就停止发育。饲喂后未交配的天牛雌成虫发育至性成熟需要17 d，有交配行为的天牛雌成虫发育至性成熟需要14 d，可见交配行为对天牛雌成虫卵巢的发育起促进作用，使发育至成熟的时间缩短了3 d。此外，还发现未交配的雌成虫卵巢可以正常发育至成熟（第4级），但不能完成产出卵粒（第5级），表明交配行为对雌成虫的排卵有着重要影响（表2）。

随着卵巢的不断发育，除卵巢管内卵黄沉积不断增加外，其卵巢管的长度和宽度也逐渐增长。卵巢管的长度和宽度在卵巢发育到第4级增长到最大并开始产卵，随着卵子的产出，卵巢在发育至第5级时开始萎缩，卵巢管的长度和宽度也有所减小。其中第4级卵巢管的平均长度为 5.58 ± 0.25 mm，平均宽度为 1.46 ± 0.19 mm，均与第1、2、3、5级存在极显著差异（长度： $F=10.350$ ， $df=4$ ，

表2 不同处理下云杉花墨天牛雌成虫卵巢发育程度和历期
Table 2 Ovarian development degrees and developmental periods of *Monochamus saltuarius* female adults with different treatments

处理方式 Treatments	卵巢分级 Ovarian grade	天牛の日齡/d Day age of <i>Monochamus saltuarius</i>
单独饲喂 Fed alone	1	1~2
	2	3~6
	3	7~16
	4	17~24
单独饲养但不饲喂 Reared alone without being fed	1	1~2
	2	3~10（在第10 d死亡 Dead on the 10 th day）
与雄成虫一起饲喂 Fed together with male adults	1	1~2
	2	3~5
	3	6~13
	4	14~21
	5	22~24
与雄成虫一起饲养但不饲喂 Reared together with male adults without being fed	1	1~2
	2	3~7（在第7 d死亡 Dead on the 7 th day）

55, $P<0.01$ ；宽度： $F=13.386$ ， $df=4$ ，55, $P<0.01$ ）（表3）。

表3 云杉花墨天牛雌成虫卵巢发育各阶段卵巢管的形态参数

Table 3 Morphological parameters of ovariole in different stages of of *Monochamus saltuarius* female adults

卵巢分级 Ovarian grade	卵巢管长度/mm The length of ovariole/mm			卵巢管宽度/mm The width of ovariole/mm		
	最大值 Max	最小值 Min	均值 ± SE Mean ± SE	最大值 Max	最小值 Min	均值 ± SE Mean ± SE
1	3.32	2.09	2.61 ± 0.51 b	0.86	0.46	0.64 ± 0.13 b
2	4.25	2.82	3.62 ± 0.61 b	1.03	0.65	0.82 ± 0.12 b
3	5.51	3.48	4.49 ± 0.75 b	1.32	0.69	1.03 ± 0.22 b
4	5.93	5.21	5.58 ± 0.25 a	1.82	1.23	1.46 ± 0.19 a
5	4.28	2.29	3.28 ± 0.82 b	1.06	0.58	0.79 ± 0.17 b

注：表中数据为平均值 ± 标准差；同列后不同字母表示差异极显著（ $P<0.01$ ，Tuckey's HSD）

Note: Data in the table are means ± SD, and different letters following the data within a column indicate extremely significant difference ($P<0.01$, Tuckey's HSD)

3 讨论

本研究通过剖检云杉花墨天牛雌成虫卵巢发现：（1）云杉花墨天牛的卵巢发育过程分为5级；（2）云杉花墨天牛雌成虫必需经饲喂其卵巢才能正常发育至成熟；（3）交配对雌成虫的卵巢发育具有促进作用。

观察卵巢发育进度是害虫预测预报的常用方法

之一^[19]，但对于不同种类昆虫的判断依据和分级标准存在差异，如根据卵黄沉积情况可将松褐天牛（*M. alternatus* Hope）的卵巢发育分为3个等级^[20]；根据颜色变化、卵粒数量和形态特征可将眉斑并脊天牛的卵巢发育分为7个等级^[17]。然而昆虫的繁殖力与还其所孕育的卵子数量、活力、胚后发育等关系密切^[21-22]，仅根据卵巢的形态解剖无法全面了解昆虫的繁殖力。后续应结合其他显微技术等研究云

杉花墨天牛雌雄成虫的性发育情况, 并明确与繁殖力间所蕴含的深层次关系, 将有助于揭示云杉花墨天牛种群数量动态和成灾机制。

已有大量研究表明取食会对昆虫的生殖产生影响, 如取食对光肩星天牛 (*Anoplophora glabripennis* Motschulsky) 雌成虫完成生殖系统的发育起着决定性作用^[23], 取食不同的植物会直接影响桑天牛 (*Apriona germari* Hope) 卵巢的发育历程^[24]。本研究证实云杉花墨天牛雌成虫必须取食寄主植物后才能发育至性成熟, 而取食对云杉花墨天牛雄成虫的影响, 以及寄主松树种类对雌成虫卵巢发育的影响还有待进一步研究。交配行为也会对昆虫的生殖产生直接影响, 但是否会影响昆虫雌成虫卵巢发育目前仍存在争议。有研究表明交配行为对眉斑并脊天牛雌成虫的卵巢发育几乎无影响^[17], 但对光肩星天牛雌成虫的卵巢发育有明显促进作用^[23]。本研究发现交配行为对云杉花墨天牛卵巢发育确实有促进作用。

4 结论

本研究通过剖检云杉花墨天牛雌成虫卵巢, 明确了该天牛雌成虫卵巢的发育历期、在不同发育等级的形态特征、饲喂和交配对卵巢发育的影响, 为加深对云杉花墨天牛生殖生理学的认识提供了基础, 有助于揭示其生理适应性的机制。更重要的是还可应用于确定云杉花墨天牛的产卵高峰期、预测下一代的发生期、发生数量, 从而推算防治适期, 为该天牛的防治工作提供参考。

参考文献:

- [1] 王直诚. 东北天牛志[M]. 吉林: 科学技术出版社, 2003.
- [2] 于海英, 吴 昊. 辽宁发现松材线虫新寄主植物和新传播媒介昆虫[J]. 中国森林病虫, 2018, 37 (5): 61.
- [3] 范立淳, 时 勇, 姜生伟, 等. 辽宁携带松材线虫的天牛种类研究[J]. 林业科学研究, 2021, 34 (6): 174-181.
- [4] 于海英, 吴 昊, 黄瑞芬, 等. 辽宁抚顺樟子松松材线虫分离与鉴定[J]. 中国森林病虫, 2020, 39 (2): 6-10.
- [5] 于海英, 吴 昊, 张旭东, 等. 落叶松自然条件下感染松材线虫初

- 报[J]. 中国森林病虫, 2019, 38 (4): 7-10.
- [6] CESARI M, MARESCALCHI O, FRANCARDI V, et al. Taxonomy and phylogeny of European *Monochamus* species: first molecular and karyological data[J]. Journal of Zoological Systematics & Evolutionary Research, 2010, 43(1): 1-7.
- [7] 齐国君, 芦 芳, 胡 高, 等. 卵巢解剖在我国迁飞昆虫研究中的应用[J]. 中国植保导刊, 2011, 31 (7): 18-22.
- [8] 嵇保中, 钱范俊. 云斑天牛生殖系统的研究[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 1995, 19 (4): 14-20.
- [9] 李天安. 沟胫天牛生殖系统的形态解剖[J]. 西南农业大学学报, 1986, 8 (3): 84-100.
- [10] 赵胜园, 杨现明, 和 伟, 等. 草地贪夜蛾卵巢发育分级与繁殖潜力预测方法[J]. 植物保护, 2019, 45 (6): 28-34.
- [11] 李学军, 刘世栋, 王淑贤, 等. 棉铃虫雌蛾卵巢发育分级浅探[J]. 植保技术与推广, 1993, 13 (4): 17.
- [12] 冯 波, 郭前爽, 朱 凤, 等. 迁飞性害虫稻纵卷叶螟成虫的卵巢发育与性诱剂诱捕[J]. 昆虫学报, 2017, 60 (2): 211-221.
- [13] 马亚斌, 孙丽娟, 李洪刚, 等. 高温对西花蓟马卵巢发育及卵黄蛋白含量的影响[J]. 昆虫学报, 2016, 59 (2): 127-137.
- [14] 刘 宁, 张彩虹, 张 艳, 等. 苹果蠹蛾卵成熟过程及卵巢发育分级研究[J]. 果树学报, 2018, 35 (9): 1098-1104.
- [15] 李汝铎, 王金其. 昆虫卵巢发育与害虫预测预报[M]. 上海: 复旦大学出版社, 1987.
- [16] NY/T 1675-2008 农区草地螟预测预报技术规范[S]. 2008.
- [17] 李岳诗. 眉斑并脊天牛卵巢发育和精子在雌虫体内的转移研究[D]. 南宁: 广西大学, 2015.
- [18] 王静静. 华山松大小蠹雌性生殖器官结构及卵巢发育的研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2010.
- [19] 张春辉. 卵巢解剖在害虫测报和防治上的应用[J]. 中国农学通报, 1994, 10 (1): 53.
- [20] 嵇保中, 易双军, 刘曙雯, 等. 松墨天牛卵巢发育特点和灭幼脉对其不育效应的影响[J]. 植物保护, 1999, 25 (5): 4-8.
- [21] SRIVASTAVA R K, GERUSUBRAMANIAN G, KRISHNA S S. Postembryonic development and reproduction in *Dysdercus koenigii* (F.) (Heteroptera: Pyrrhocoridae) on exposure to Eucalyptus oil volatiles[J]. Biological Agriculture & Horticulture, 1995, 12(1): 81-88.
- [22] SHUKER D M, BURDFIELD-STEEL E R. Reproductive interference in insects[J]. Ecological Entomology, 2017, 42(1): 65-75.
- [23] 李德家, 刘益宁. 光肩星天牛成虫性发育同日龄、补充营养以及交配之间的关系[J]. 西北林学院学报, 1997, 12 (4): 19-23.
- [24] 秦旦仁, 郭同斌, 蒋富荣, 等. 桑天牛卵巢发育与补充营养关系的研究[J]. 南京林业大学学报, 1994, 18 (3): 46-50.

Ovarian Development of *Monochamus saltuarius* Female Adults

WANG Jue, FAN Li-chun, WANG Wei-tao, ZHENG Ya-nan

(College of Forestry, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, Liaoning, China)

Abstract: [Objective] Clarify the developmental period from emergence to sexual maturity, and the effects of feeding and mating on the ovary development of female adults. [Method] In this study, the mature larvae of *M. saltuarius* were collected and reared in the laboratory till adult emerged. The one-day-old female adults were treated by four ways: 1) reared alone without being fed, 2) fed alone, 3) fed together with male adults, 4) reared together with male adults without being fed. The ovaries of female adults were continuously dissected every day until wilting or death of female adult ovaries was observed. [Result] The results showed that: 1) The ovarian development process of *M. saltuarius* was divided into five stages. 2) The ovaries of female adults of the unfed *M. saltuarius* stopped developing after reaching the second stage. 3) The ovaries of fed and mated female adults matured on the 14th day, and the ovaries of fed but unmated female adults matured on the 17th day. [Conclusion] It can be seen that the ovaries of the adult females of *M. saltuarius* need to be fed before their ovaries develop to maturity normally. In addition, the mating promote the development of ovariy, shorten the developmental process by three days.

Keywords: *Monochamus saltuarius*; ovarian development; feeding; developmental duration; mating

(责任编辑: 崔 贝)