



苏定义, 王玉琴, 李露, 吴国星, 朱家颖. 捕食性蝽类唾液腺解剖方法—以叉角厉蝽为例 [J]. 环境昆虫学报, 2023, 45 (4): 1126–1129.

# 捕食性蝽类唾液腺解剖方法—以叉角厉蝽为例

苏定义<sup>1</sup>, 王玉琴<sup>1</sup>, 李露<sup>1</sup>, 吴国星<sup>2</sup>, 朱家颖<sup>1\*</sup>

(1. 西南林业大学, 云南省森林火灾预警与控制重点实验室, 昆明 650224; 2. 云南农业大学植物保护学院, 昆明 650201)

**摘要:** 唾液腺的解剖是研究捕食性蝽类唾液成分及功能的关键。以叉角厉蝽 *Eocanthecona furcellata* 为例, 报道了解剖获得其完整唾液腺的方法。该方法与其他解剖方法相比明显不同之处在于使用镊子固定虫体, 更有利于唾液腺的解剖与收集。通过拍照观察, 叉角厉蝽的唾液腺由主腺、副腺、肺门和导管组成。主腺可分为主腺前叶和主腺后叶, 它们之间通过肺门相连。主腺肺门处着生有两根导管, 其中一根导管与口器相连, 而另一根导管与副腺连接。本文描述的解剖方法以及叉角厉蝽唾液腺形态结构可用于指导解剖获得其它捕食性蝽类的唾液腺, 进而提取唾液开展成分鉴定和功能研究。

**关键词:** 捕食性蝽; 叉角厉蝽; 唾液腺; 解剖; 形态结构

中图分类号: Q964; S476

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2023) 04-1126-04

## A protocol for dissecting the salivary gland from predatory bug—A case study in *Eocanthecona furcellata*

SU Ding-Yi<sup>1</sup>, WANG Yu-Qin<sup>1</sup>, LI Lu<sup>1</sup>, WU Guo-Xing<sup>2</sup>, ZHU Jia-Ying<sup>1\*</sup> (1. Key Laboratory of Forest Disaster Warning and Control of Yunnan Province, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China; 2. College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

**Abstract:** Dissection of the salivary gland is key to identify the components of saliva from predatory bug and investigate its functions. In this work, a case study was carried out in a predatory bug, *Eocanthecona furcellata*. A protocol for dissecting the complete salivary gland from this bug was described. In composition with other dissection methods, the distinct aspect of this method was using the tweezers to fix the insect body, which was helpful for dissecting and collecting the salivary gland. According to its morphology, the salivary gland of *E. furcellata* was composed by main gland, accessory gland, hilum and duct. Main gland can be divided into anterior main gland and posterior main gland. There was a duct connected the main gland and mouthpart, and another duct connect the main gland and accessory gland, of which both ducts were connected to hilum in the main gland. The protocol reported in this study and morphology of the salivary gland of *E. furcellata* can be used to guide the dissection of salivary gland from other predatory bugs to extract saliva for deciphering its components and characterizing its functions.

**Key words:** Predatory bug; *Eocanthecona furcellata*; salivary gland; dissection; morphology

捕食性蝽类系半翅目 Hemiptera 异翅亚目 Heteroptera 中能捕食猎物蝽象的统称, 主要分布在蝽科 Nepidae、负蝽科 Belostomatidae、尾蝽科

Gerridae、仰蝽科 Notonectidae、花蝽科 Anthocoridae、姬蝽科 Nabidae、猎蝽科 Reduviidae、盲蝽科 Miridae 以及部分蝽科 Pentatomidae 中 (萧

基金项目: 云南省农业基础研究联合专项重点项目 (202101BD070001-024); 云南省高层次人才培养项目 (YNWR-QNBJ-2018-393)

作者简介: 苏定义, 男, 1996年生, 贵州六盘水人, 硕士研究生, 研究方向为昆虫生理生化与分子生物学, E-mail: dingyi123@swfu.edu.cn

\* 通讯作者 Author for correspondence: 朱家颖, 男, 博士, 教授, 研究方向为昆虫生理生化与分子生物学, E-mail: jy Zhu@swfu.edu.cn

收稿日期 Received: 2022-04-22; 接受日期 Accepted: 2022-07-26

采瑜, 1963), 估计超过 20 000 种 (Weirauch & Schuh, 2011)。在捕食过程中, 捕食性蜻类将由唾液腺分泌的唾液 (Saliva) (也称为毒液 Venom) 通过用口针注射到猎物体体内迅速杀死猎物, 并利用唾液来对猎物中的营养物质进行体外消化后, 通过口针吸收回体内进行利用 (Cantón & Bonning, 2020)。捕食性蜻类间的唾液腺结构保守, 主要由主腺和副腺构成, 主腺可分为主腺前叶和主腺后叶, 主腺通过主腺导管和口针相互连接, 副腺通过副腺导管和主腺相连 (Kumar & Sahayaraj, 2012)。主腺导管起到将唾液从唾液腺运输到头部直至口针, 经由口针注射到猎物体体内的作用。现有研究表明, 主腺与副腺以及主腺前、后叶之间产生的唾液不仅在组分上差异较大, 而且在功能上存在异质性 (Walker *et al.*, 2018; Fischer *et al.*, 2020)。普遍认为, 主腺前叶唾液主要起麻痹猎物或在遇到威胁时进行主动防御的作用, 而主腺后叶唾液主要发挥水解猎物组织和消化营养物质的作用 (Walker *et al.*, 2017)。纵观现有有关捕食性蜻类唾液的生理功能研究发现, 捕食性蜻类唾液中含有丰富的蛋白和多肽, 除具有麻痹猎物、防御天敌、消化营养物质等功能外, 还具有抗菌、裂解细胞、抗血吸虫等功能 (Walker *et al.*, 2016; Tonk *et al.*, 2020; Wait *et al.*, 2020)。深入研究揭示捕食性蜻类唾液蛋白组分及其作用机制, 有助于揭示捕食性蜻类的控害机制, 为新的害虫控制途径研发提供指导。此外, 因捕食性蜻类唾液具有独特的生理功能, 其在生物杀虫剂或生物医药研究领域具有广阔的应用前景。然而, 目前有关捕食性蜻类唾液组分、功能及其作用机制方面的研究甚少。

捕食性蜻类唾液的研究需要建立在能熟练解剖获得唾液腺的基础上, 但是目前缺乏对于捕食性蜻类唾液腺解剖方法的报道。有鉴于此, 本文以叉角厉蜻 *Eocanthecona furcellata* 为例, 报道了该捕食性蜻类唾液腺的解剖方法, 以期为捕食性蜻类唾液的相关研究奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试昆虫

解剖用叉角厉蜻为实验室饲养多代的种群, 以黄粉甲为猎物, 在温度  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ 、相对湿度  $65\% \pm 5\%$  和光周期 13 L: 11 D 条件下饲养。

### 1.2 实验器材

冰箱 (海尔 BCD-480BPT)、体视显微镜 (Leica S6E)、不锈钢尖头镊子 (惠民通 AAA-12S)、不锈钢直头剪刀 (亚润 YR-JD-125)、医用手术刀 (蜂语堂 3 号刀柄 + 11 号刀片)、玻璃培养皿 (环球 90 mm) 和解剖针 (0#昆虫针 + 竹签自制)。

### 1.3 方法

将叉角厉蜻成虫放入  $-20^\circ\text{C}$  冰箱冷冻 5 min, 使其麻痹。置于体视显微镜下, 在盛有磷酸缓冲溶液 (Phosphate-buffered saline, PBS) 的培养皿中, 使用解剖针、镊子、剪刀、和手术刀解剖叉角厉蜻唾液腺。

## 2 结果与分析

### 2.1 唾液腺解剖过程

叉角厉蜻唾液腺的解剖包括冷冻、去除足、固定、去除脂肪体、去除消化系统、去除翅和背板、去除胸部多余组织以及取出完整唾液腺等环节。将叉角厉蜻成虫置于  $-20^\circ\text{C}$  冰箱冷冻 5 min, 使其麻痹。取出冷冻麻痹后的叉角厉蜻放在盛有 PBS 缓冲溶液的培养皿中, 用剪刀剪去足并取去其 6 条足 (图 1-A ~ C)。将叉角厉蜻腹面朝上放置, 用镊子夹住叉角厉蜻前胸两侧, 用手术刀沿其胸腹部交接处及腹部两侧划开体壁。然后, 用镊子将腹板掀起后可看到腹腔中的脂肪体 (图 1-D)。用镊子取去脂肪体, 直至能看到消化系统 (图 1-E)。再用镊子按从尾部到胸部的顺序清理出消化系统, 可以发现唾液腺的导管附着在消化道上 (图 1-F), 并用解剖针小心的挑去残留的组织碎片和脂肪体。此时, 可看到叉角厉蜻的部分唾液腺从胸部延伸到了腹部 (图 1-G)。用镊子夹住叉角厉蜻胸部, 再用剪刀将叉角厉蜻翅以及背板剪去, 并用解剖针将胸部残留的组织清理干净 (图 1-H)。然后, 用手术刀轻轻的从叉角厉蜻前胸中部划开体壁, 随后利用解剖针和镊子小心地取去体壁, 并用镊子从虫体下方取去小盾片, 用解剖针清理干净胸部的脂肪体 (图 1-I)。随即用镊子取出结构完整的头部和唾液腺 (图 1-J)。用解剖针划开头部体壁, 将里面的组织逐步清理干净, 即可取出完整的唾液腺 (图 1-K)。

### 2.2 唾液腺形态结构

通过解剖并拍照观察发现, 叉角厉蜻唾液腺

在 PBS 中整体呈半透明状 (图 2)。唾液腺分为主腺和副腺, 主腺又可分为主腺前叶和主腺后叶, 主腺前叶短小, 主腺后叶较长。主腺前叶与主腺后叶通过肺门相连。主腺通过和肺门连接的主腺

导管与口针相连, 而副腺导管一端与肺门相连, 另一端与副腺相连。副腺导管整体较长, 呈细丝管状, 有许多呈 U 形折叠的部分。唾液由主腺导管从肺门处运往头部及口针。

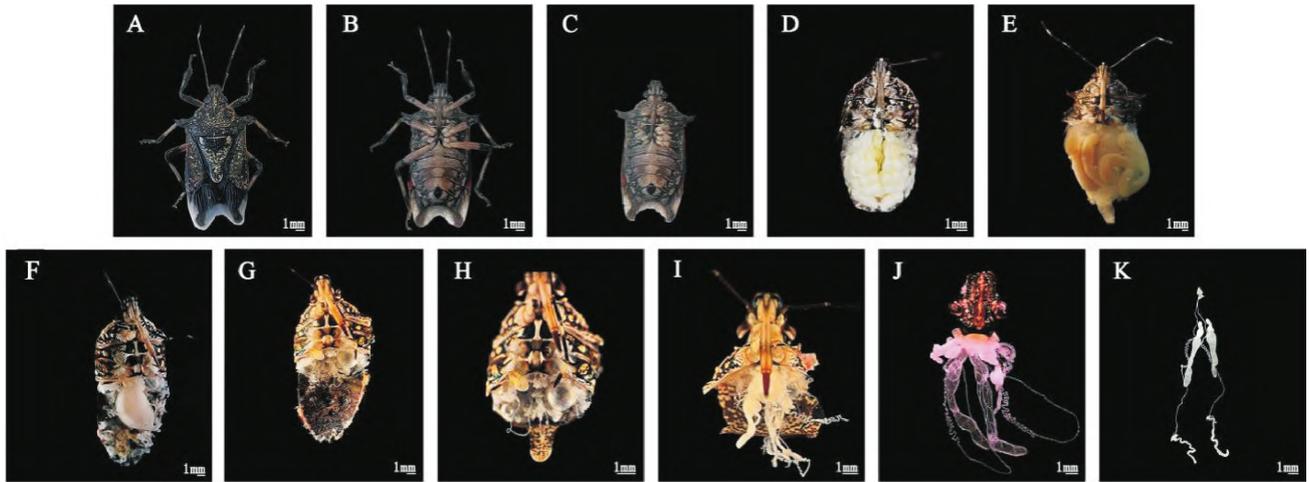


图 1 叉角厉蝽唾液腺解剖过程

Fig. 1 Processes for dissecting the salivary gland from *Eocanthecona furcellata*

注: A, 背面; B, 腹面; C, 去足的腹面; D, 脂肪体; E, 消化系统; F, 唾液腺与消化道; G, 腹腔中的唾液腺; H, 前胸与唾液腺; I, 胸腔中的唾液腺; J, 头部与唾液腺; K, 整体的唾液腺。Note: A, Dorsal; B, Ventral; C, Ventral without leg; D, Fat body; E, Digestive system; F, Salivary gland and digestive tract; G, Salivary gland in abdominal cavity; H, Prothorax and salivary gland; I, Salivary gland in the thoracic cavity; J, Head and salivary gland; K, General structure of the salivary gland.

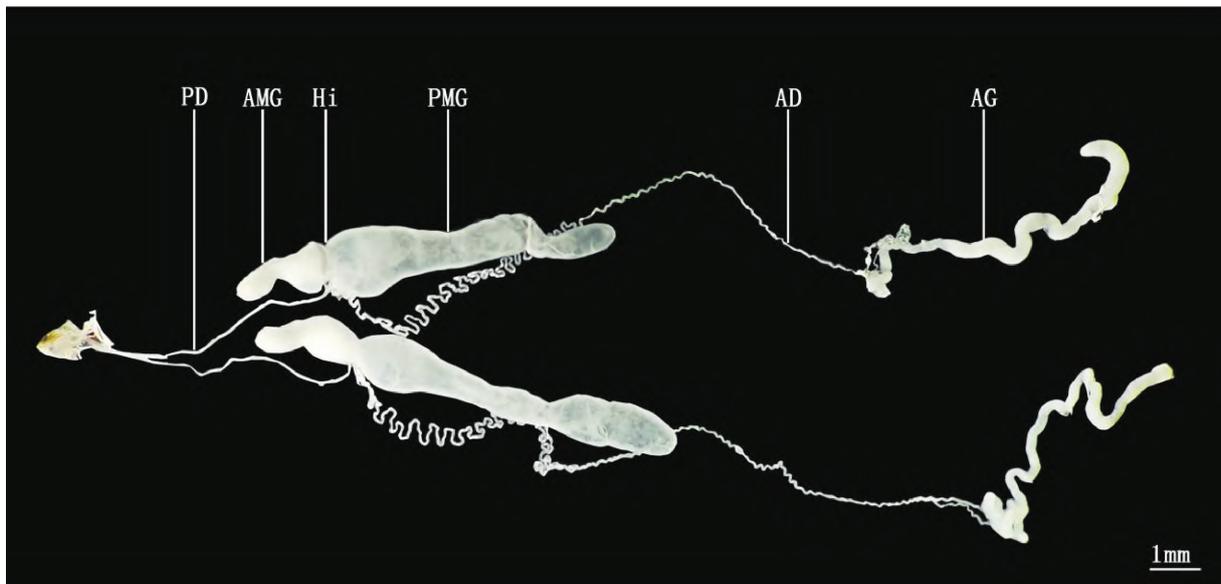


图 2 叉角厉蝽唾液腺形态结构

Fig. 2 Morphology of the salivary gland of *Eocanthecona furcellata*

注: AMG, 主腺前叶; PMG, 主腺后叶; AG, 副腺; Hi, 肺门; PD, 主腺导管; AD, 副腺导管。Note: AMG, Anterior main gland; PMG, Posterior main gland; AG, Accessory gland; Hi, Hilum; PD, Duct of principal gland; AD, Duct of accessory gland.

### 3 结论与讨论

按照本文所述方法熟练练习后,能够在 5 min 左右解剖获得每头叉角厉蝽的完整唾液腺。此外,作者应用此方法也能在较短时间内解剖获得蝽蝻 *Arma custos*、黄带犀猎蝽 *Sycanus croceovittatus*、南方小花蝽 *Orius strigicollis* 等蝽象的完整唾液腺,表明该解剖方法具有普适性,可应用于其他半翅目昆虫唾液腺的解剖。在不同种类蝽象唾液腺的解剖过程中,解剖难度的区别主要体现在胸、腹部体壁的坚硬程度,体壁较坚硬的种类(如叉角厉蝽)所需的解剖时间更长,且在去除胸、腹体壁的过程中不能用力过猛,否则会破坏唾液腺的完整性。就不同种类蝽象的唾液腺结构而言,尽管它们在大小和形状以及在体腔中的位置存在差异,但差异较小(Kumar & Sahayaraj, 2012; Carvalho *et al.*, 2021)。因此,可以用叉角厉蝽的唾液腺形态结构作为参考来判断是否解剖获得其他蝽象完整的唾液腺,并识别它们唾液腺的各种组织结构。

对于昆虫组织或器官的解剖,通常需要将解剖对象固定在蜡盘上,并在解剖过程中用昆虫针固定解剖对象的足(Skvarla *et al.*, 2020)。本文描述的解剖方法与此不同,采用镊子夹住解剖对象的前胸两侧来固定虫体,且将干扰唾液腺解剖的足去除。将虫体固定到蜡盘上解剖,固定虫体用的解剖针对去除唾液腺外的组织会产生干扰,不利于实时调整虫体位置来契合这些组织的去除(Skvarla *et al.*, 2020)。而且,因为唾液腺的主腺和副腺容易破裂,加之导管长,导致昆虫针的存在更容易造成唾液腺在取出的过程中受损。与将虫体固定到蜡盘上再解剖相比,本文描述的方法在操作中更加简便,用镊子固定虫体具有方便调整虫体位置的优势,唾液腺不会因为其他物体的存在而导致容易受损。此外,通过解剖实践发现,可以将镊子适当刺入虫体进而对虫体进行更加稳定的固定,而且不影响唾液腺的完整性。但是,本文描述的采用镊子直接固定虫体,然后再解剖的方法,仅对虫体较大的蝽象实用,对于虫体微小的蝽象还是应采用将虫体在蜡盘上固定后再解剖的方法(Cicero & Brown, 2021)。同时,本文描述的方法,解剖用的缓冲液应淹没虫体组织,一

方面有利于脂肪体和其他残体的去除,另一方面唾液腺需要漂浮在缓冲液中才不容易因和固体组织或器皿粘附而受损。

### 参考文献 (References)

- Cantón PE, Bonning BC. Extraoral digestion: Outsourcing the role of the hemipteran midgut [J]. *Current Opinion in Insect Science*, 2020, 41: 86–91.
- Carvalho PEGR, Martínez LC, Cossolin JFS, *et al.* The salivary glands of *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae): Morphology and secretory cycle [J]. *Tissue Cell*, 2021, 70: 101498.
- Cicero JM, Brown JK. A stationary tweezer platform for high throughput dissections of minute arthropods and extirpation of their minute organs [J]. *MethodsX*, 2021, 8: 101317.
- Fischer ML, Wielsch N, Heckel DG, *et al.* Context – dependent venom deployment and protein composition in two assassin bugs [J]. *Ecology and Evolution*, 2020, 10: 9932–9947.
- Kumar SM, Sahayaraj K. Gross morphology and histology of head and salivary apparatus of the predatory bug, *Rhynocoris marginatus* [J]. *Journal of Insect Science*, 2012, 12: 19.
- Skvarla MJ, Poh KC, Evans JR, *et al.* A technique for dissecting the salivary glands from the abdomens of deer keds (Diptera: Hippoboscidae: *Lipoptena* Nitzsch, 1818 and *Neolipoptena* Bequaert, 1942) [J]. *Journal of Insect Science*, 2020, 20 (6): 4.
- Tonk M, Vilcinskas A, Grevelding CG, *et al.* Anthelmintic activity of assassin bug venom against the blood fluke *Schistosoma mansoni* [J]. *Antibiotics*, 2020, 9 (10): 664.
- Wait LC, Walker AA, King GF. Crouching tiger, hidden protein: Searching for insecticidal toxins in venom of the red tiger assassin bug (*Havithus rufovarius*) [J]. *Toxins*, 2020, 13 (1): 3.
- Walker AA, Weirauch C, Fry BG, *et al.* Venoms of heteropteran insects: A treasure trove of diverse pharmacological toolkits [J]. *Toxins*, 2016, 8 (2): 43.
- Walker AA, Madio B, Jin J, *et al.* Melt with this kiss: Paralyzing and liquefying venom of the assassin bug *Pristhesancus plagipennis* (Hemiptera: Reduviidae) [J]. *Molecular Cell Proteomics*, 2017, 16 (4): 552–566.
- Walker AA, Mayhew ML, Jin J, *et al.* The assassin bug *Pristhesancus plagipennis* produces two distinct venoms in separate gland lumens [J]. *Nature Communications*, 2018, 9 (1): 755.
- Weirauch C, Schuh RT. Systematics and evolution of Heteroptera: 25 years of progress [J]. *Annual Review of Entomology*, 2011, 56: 487–510.
- Xiao CY. The classification system of Hemiptera [J]. *Chinese Bulletin of Entomology*, 1963, 7 (2): 93–95. [萧采瑜. 半翅目异翅亚目的分类系统 [J]. 昆虫知识, 1963, 7 (2): 93–95]