

动物科学

# 丁香毒杀赤拟谷盗卵的胚胎学研究\*

韩群鑫<sup>1,2</sup>, 黄寿山<sup>2</sup>

(1. 仲凯农业技术学院 植保系, 广州 511025 ;2. 华南农业大学 资源环境学院, 广州 510642)

**摘要** 赤拟谷盗是世界性仓库害虫。本研究采用环境扫描电镜研究了不同胚胎发育期卵的表面结构及胚胎发育过程,特别是研究了丁香及其化学成分对赤拟谷盗卵的毒杀作用。研究表明赤拟谷盗卵呈椭圆形,表面光滑;发育60 h时,卵的一端已经明显出现分化;发育76 h时,已经可以见到头部发育完整的幼虫;至92 h时,卵已经开始孵化。丁香处理的赤拟谷盗卵,部分卵能发育为幼虫,但幼虫均不能正常孵化而死亡。其中,发育12 h后用丁香处理的赤拟谷盗卵不能发育为幼虫而干瘪死亡,发育36 h后用丁香处理的卵虽能部分发育为幼虫,但幼虫全部在卵壳内死亡,发育84 h后用丁香处理的卵,部分幼虫在孵化时死亡。目前主要用化学防护剂和熏蒸剂防治储藏害虫,用植物源的丁香控制赤拟谷盗具有较大的应用价值。

**关键词** :丁香,赤拟谷盗,胚胎发育,毒杀作用

中图分类号 :S435.1

文献标识码 :A

文章编号 :1672-6693(2008)02-0016-04

昆虫卵是一个静止而不取食的虫态,在害虫综合治理中,利用化学药剂毒杀昆虫卵的研究一直备受关注,如研究发现尼索朗 Nissoran 是一种强力杀卵剂,对鳞类卵有很好的防治效果,西维因乐果合剂能杀三化螟卵,灭幼脲1号能杀二化螟 *Chilo suppressalis* 卵、亚洲玉米螟 *Ostrinia furacalis* 卵<sup>[1]</sup>。徐汉虹<sup>[2]</sup>指出肉桂油有杀黄粉虫 *Tenebrio molitor* 卵的作用,不能孵化的黄粉虫卵的胚胎仍处于不成熟状态,但对精油毒杀卵的作用机制没有进一步的研究。

赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* (Herbst) 是一种重要的仓储害虫,分布遍及世界各地。该虫危害谷物、油料、动物性产品及加工品、中药材等,食性杂,除直接取食为害外,该虫的分泌物还可污染被害产品,使被害物结块,变色变臭<sup>[3]</sup>。目前我国仓储害虫的防治主要是应用化学防护剂和熏蒸剂,虽然在一定程度上控制了害虫的发生,但因此所造成的“3R”问题(即 resistance 抗性、resurgence 再猖獗、residue 残留)也日趋明显。赤拟谷盗作为世界性仓库害虫,国内外每年都有大量研究报道,但大多集中于防治研究方面。在研究丁香及其化学成分对赤拟谷盗的毒杀作用时发现,桃金娘科 Myrtaceae 植物丁香 *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry 能毒杀赤拟谷盗卵,并且发育72 h左右的赤拟谷盗卵对丁香的

主要化学成分——丁香酚最敏感。本文采用环境扫描电镜研究赤拟谷盗卵的表面结构结合显微镜观察赤拟谷盗的胚胎发育过程,以揭示丁香影响赤拟谷盗卵胚胎发育的作用过程。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* (Herbst),参考白明杰等<sup>[4]</sup>的饲养方法。试验所采用的卵均在  $31 \pm 1^\circ\text{C}$ , RH 50% ~ 85% 的环境条件下发育。

丁香:桃金娘科 Myrtaceae 植物丁香 *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry 的干燥花蕾。从广州市清平药材市场购得,用粉碎机粉碎备用;丁香油:生化试剂,国药集团化学试剂有限公司;丁香酚:中国医药集团上海化学试剂公司。

试验仪器:XL-30ESEM 环境扫描电子显微镜:荷兰飞利浦电子光学有限公司;JFSD-100 粉碎机:上海嘉定粮油检测仪器厂;Axioskop40 显微镜:蔡司光学仪器(上海)国际贸易有限公司;HPG-280B 光照培养箱:哈尔滨市东联电子技术开发有限公司。

### 1.2 试验方法

(1)卵表面结构的扫描电镜观察。收集赤拟谷盗卵,用0.1 Mol NaOH 溶液处理10 min 左右,然后

\* 收稿日期 2007-12-05

作者简介 韩群鑫(1972-),女,副教授,博士,研究方向为昆虫学。

用蒸馏水清洗干净卵粒表面的附着物,而后用吸水纸吸干水分,在显微镜下装样,按照环境电子扫描的要求常规处理,观察卵粒表面结构。环境扫描电子显微镜运行时的温度为  $T = 23.1^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{RH} = 50\%$ 。

(2) 赤拟谷盗卵胚胎发育过程的观察。参照刘勇等<sup>[5]</sup>处理豆天蛾的方法。最早的胚胎发育材料取自产下 4 h 的赤拟谷盗卵粒,每隔 8 h 固定 1 次。每到固定的时间,用解剖针轻轻拨一部分卵粒放入盛有固定液的洁净小瓶中,其余卵放回恒温箱中让其继续发育。拨出的卵粒置于 Carnoy's 固定液中固定 30 min,然后用 90% 酒精清洗 2~3 次,而后用软化剂软化 2 min,软化剂的配方为 80% 酒精 10 mL, 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$  2 mL, KOH 1g。软化 2 min 后,80% 酒精中洗 2~3 次,解剖镜下用解剖针剥去卵壳,浸在 70% 酒精中保存待用。显微镜下观察拍照。

(3) 丁香处理的赤拟谷盗卵胚胎发育过程的观察。选取正常发育了一段时间的赤拟谷盗卵放入培养皿中,加入足够量的丁香粉末,密闭。没有丁香处理的为对照,观察卵的孵化情况,直至对照中的幼虫全部孵化而丁香处理的卵干瘪为止。把丁香处理的赤拟谷盗卵用 Carnoy's 固定液中固定 30 min,然后用 90% 酒精清洗 2~3 次,再用软化剂软化 2 min,80% 酒精中洗 2~3 次,解剖镜下用解剖针剥去卵壳,显微镜下观察拍照。

## 2 结果与分析

### 2.1 赤拟谷盗卵的表面结构

利用环境扫描电子显微镜观察发现,赤拟谷盗卵呈椭圆形,表面没有明显的棘或突起(图 1、图 2)。用丁香处理后的赤拟谷盗卵表面皱缩(图 3)。观察发现,用丁香处理的赤拟谷盗卵全部干瘪,颜色发黄,不能孵化最终死亡。



图 1 赤拟谷盗正常卵粒的表面扫描图

Fig. 1 The surface character of *T. castaneum* egg

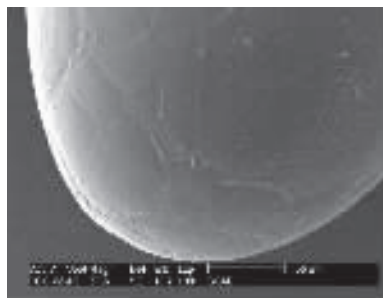


图 2 赤拟谷盗卵的端部扫描图

Fig. 2 The end of *T. castaneum* egg

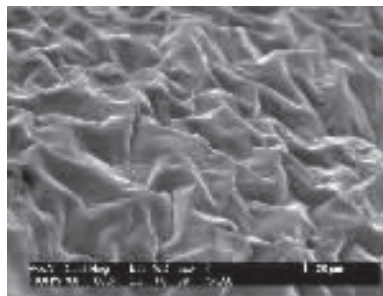


图 3 丁香处理赤拟谷盗卵后的表面扫描图,示卵粒表面皱缩

Fig. 3 The surface character of *T. castaneum* egg treated with clove changed to much wrinkle

### 2.2 赤拟谷盗卵的胚胎发育过程

图 4 至图 7 表明(封三彩图)赤拟谷盗卵在  $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{RH} 50\% \sim 85\%$  的环境条件下,最早孵化卵的历期为 92 h。卵发育 60 h 后,卵的一端已经明显出现分化;发育 76 h 时,已经可以见到头部发育完整的幼虫;至 92 h 时,卵已经开始孵化。

### 2.3 丁香对赤拟谷盗卵胚胎发育的影响

图 8(封三彩图)表明,赤拟谷盗卵在发育 12 h 后,用丁香粉末处理赤拟谷盗卵,卵内部收缩,卵不能正常发育为幼虫,干瘪而死。

赤拟谷盗卵在发育 36 h 后,用丁香粉末处理卵,部分卵能发育为幼虫,但不能咬破卵壳而死亡,见图 9(封三彩图)部分卵没有正常发育为幼虫,卵黄里充满了大的颗粒,见图 10(封三彩图)。

赤拟谷盗卵在发育 60 h 后,用丁香粉末处理卵,卵可正常发育为幼虫(封三彩图 11、12),但卵壳内的幼虫不能咬破卵壳正常孵化而死亡。

赤拟谷盗卵在发育 84 h 后,用丁香粉末处理卵,卵可正常发育为幼虫(封三彩图 13、14),试验观察发现:虽然卵壳已经非常稀薄,但部分虫体不能破壳而出而死亡,部分幼虫已经咬破卵壳,头部伸出卵壳,在孵化过程中死亡。

### 3 讨论与小结

由环境扫描电子显微镜观察发现,赤拟谷盗卵呈椭圆形,表面光滑。在 $31 \pm 1^\circ\text{C}$ ,RH 50%~85%的环境条件下,卵发育历期最短的为92 h。显微镜观察发现,发育60 h后,卵的一端已经明显出现分化;发育76 h时,已经可以见到头部发育完整的幼虫;至92 h时,卵已经开始孵化。

用丁香处理的赤拟谷盗卵,部分虽能发育为幼虫,但均不能正常孵化而死亡。其中,已发育12 h的卵用丁香处理后不能正常发育为幼虫而干瘪死亡,胚胎发育时间大于36 h的卵用丁香处理后虽能部分发育为幼虫,但幼虫在卵壳中全部死亡;已正常发育84 h的赤拟谷盗卵,其胚胎发育已经完成,但部分卵壳中的幼虫在孵化时死亡。

植物精油对害虫的主要方式有熏蒸、忌避、杀卵、抑制生长发育、干扰虫体水分代谢和破坏昆虫表皮组织的作用<sup>[6-9]</sup>。柠檬酸、香茅醇、法尼醇、龙牛儿醇、丁香酚能阻止埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 卵孵化<sup>[10]</sup>, Bushland<sup>[11]</sup>发现葛缕子油、柠檬草油、丁香油可使蝇卵中发育成熟的幼虫刚一孵化便死亡,Shaaya<sup>[7]</sup>研究认为,植物精油杀卵的机理主要是干扰水分平衡。本试验研究发现,丁香处理赤拟谷盗卵后,卵干瘪变褐而死。用丁香处理的已发育12 h的赤拟谷盗卵不能发育为幼虫,但用丁香处理的已发育36 h以上的赤拟谷盗卵能发育为幼虫,而幼虫不能孵化或者在孵化时死亡,说明丁香对赤拟谷盗不同发育时间卵的毒杀机制不完全一样。对于后期卵(已发育60 h以上)可能是影响了卵的水分平衡,使发育成熟的幼虫不能孵化或者是卵内幼虫几丁质合成受到抑制,幼虫缺乏几丁质,不能突破卵壳而死于卵内;对早期卵(已发育12 h)则干扰了其正常的胚胎发育。

西维因乐果合剂的杀卵作用主要是抑制胆碱酯酶,破坏神经活动<sup>[12]</sup>。灭幼脲杀卵的机制可能是卵内幼虫几丁质合成受到抑制,幼虫缺乏几丁质,不能突破卵壳而死于卵内<sup>[11]</sup>。比较丁香处理的赤拟谷盗卵的发育情况和西维因乐果合剂处理的三化螟卵的发育情况,可以看出二者有共同特点,即多数虫卵胚胎已经发育为幼虫而死于卵内,少数孵化后不久也即死亡,而西维因乐果合剂的杀卵作用主要是抑制胆碱酯酶,破坏神经活动,那么丁香是否也影响赤拟谷盗卵内的胆碱酯酶则需要进一步的研究。

丁香酚和 $\beta$ -石竹烯是丁香的主要挥发性化学成

分<sup>[13-17]</sup>,它们的分子量分别为164.20和204.34,这类分子量小的化学物质是否可以通过扩散等方式进入昆虫卵内而影响虫体的发育以及它们是否影响卵的胚胎发育,还有待深入的研究。

致谢:感谢华南农业大学测试中心陈新芳老师提供环境扫描电镜技术方面的帮助。

#### 参考文献:

- [1] 弓惠芬,吴志飞. 昆虫生长调节剂—灭幼脲1号作为二化螟杀卵剂的初步研究[J]. 北京农学院学报, 1985(2):123-125.
- [2] 徐汉虹,赵善欢. 五种精油对储粮害虫的忌避作用和杀卵作用研究[J]. 中国粮油学报, 1995, 10(1):1-5.
- [3] 陈耀溪. 仓库害虫(第3版)[M]. 北京:中国农业出版社, 1985. 126-133.
- [4] 白明杰,党保华,曹阳,等. 赤拟谷盗生活史参数变化的研究[J]. 粮食储藏, 1993(3):8-14.
- [5] 刘勇,牟吉元. 豆天蛾的胚胎发育 I—卵裂、胚盘、胚带、原肠和体腔的形成[J]. 山东农业大学学报, 2000, 31(1):24-26.
- [6] 徐汉虹. 植物精油对仓库害虫的活性与有效成分研究[M]. 广州:华南农业大学出版社, 1992. 45-66.
- [7] SHAYA E, PISAREV V. Toxicity of Plant Oils and Their Major Constituents Against Stored Product Insects[C]. Proceedings 5th International Working Conference on Stored Product Protection. France, 1990. 629-637.
- [8] SHAYA E, KOSTJUKOVSKI M E, EUKPRAKARN C. Plant Oil as Fumigant and Contact Insecticides for the Control of Stored-product[J]. J Stored Res, 1997, 33(1):7-15.
- [9] HUANG Y, TAN J M, W L, KINI T M, et al. Toxic and Antifeedant Action of Nutmeg Oil Against *Tribolium castaneum* and *Sitophilus zeamais* Motsch[J]. J Stored Res, 1997, 33(4):189-298.
- [10] 徐汉虹,赵善欢. 植物精油在害虫防治上的应用[J]. 天然产物研究与开发, 1994. 82-88.
- [11] BUSHLAND R C. Volatile Oils as Ovicides for the Screw-worm *Cochloomyia Americana* C. &CPF[J]. J Econ Ent, 1939, 32(3):430-431.
- [12] 作者名不祥. 应用杀卵剂防治三化螟[J]. 今日科技, 1972, 24:21.
- [13] DEYAMA T, HORIGUCHI T. Studies on the Components of Essential Oil of Clove (*Eugenia caryophyllata* Thunberg)[J]. Yakugaku Zasshi, 1971, 91:1383-1386.
- [14] PINO J A, MARBOT R, AGUERO J, et al. Essential Oil from Buds and Leaves of Clove (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry) Grown in Cuba[J]. Journal of Es-

sential Oil Research , 2001 , 13 ( 4 ) : 278-279.

[ 15 ] RAINA V K , SRIVASTAVA S K , AGGARWAL K K , et al. Essential Oil Composition of *Syzygium aromaticum* Leaf from Little Andaman , India[ J ]. Flavour and Fragrance Journal , 2001 , 16 ( 5 ) : 334-336.

[ 16 ] PATHAK S B , NIRANJAN K , PADH H , et al. TLC Densitometric Method for the Quantification of Eugenol

and Gallic Acid in Clove[ J ]. Chromatographia , 2004 , 60 ( 8 ) : 241-244.

[ 17 ] SRIVASTAVA A K , SRIVASTAVA S K , SYAMSUNDAR K V. Bud and Leaf Essential Oil Composition of *Syzygium aromaticum* from India and Madagascar[ J ]. Flavour and Fragrance Journal , 2005 , 20 ( 1 ) : 51-53.

## A Study of *Syzygium aromaticum* for the Killing of *Tribolium castaneum* Egg

HAN Qun-xin<sup>1 2</sup> , HUANG Shou-shan<sup>2</sup>

( 1. Dept. of Plant Protection , Zhongkai College of Agricultural Technology , Guangzhou 510225 ;

2. College of Environment and Natural Resources , South China Agricultural University , Guangzhou 510642 , China )

**Abstract** : The red flour beetle *Tribolium castaneum* ( Herbst ) is a worldwide pest of stored product. Using scanning electron microscope , we observe the egg surface morphology and embryonic developmental process of the pest. Especially , we study the effect of the clove *Syzygium aromaticum* for the killing of red flour beetle egg. The normally developed egg was ellipse with smooth surface in shape. The 60 h-old egg has differentiated at one end of the egg observed from outside , 76 h-old egg has developed the larval shape and 92 h-old egg begins to hatch. Eggs treated with clove could partially develop to larvae , but all of these larvae died as they could not normally hatch. Among various treatments , 12 h-old eggs treated with clove could not develop into larvae and so died. Some of 36 h-old eggs treated with clove could develop to larvae , but could not hatch or so died in egg shell , and 84 h-old eggs treated with clove could complete its embryonic development , but the larvae in the shell would die while hatching. The control of stored product pests , at present , mainly still depends on chemical protectants and fumigants , and the finding in the effect of the clove for the control of the red flour beetle is of potential significance in stored product protection.

**Key words** : *Syzygium aromaticum* ; *Tribolium castaneum* ; embryonic development

( 责任编辑 李若溪 )

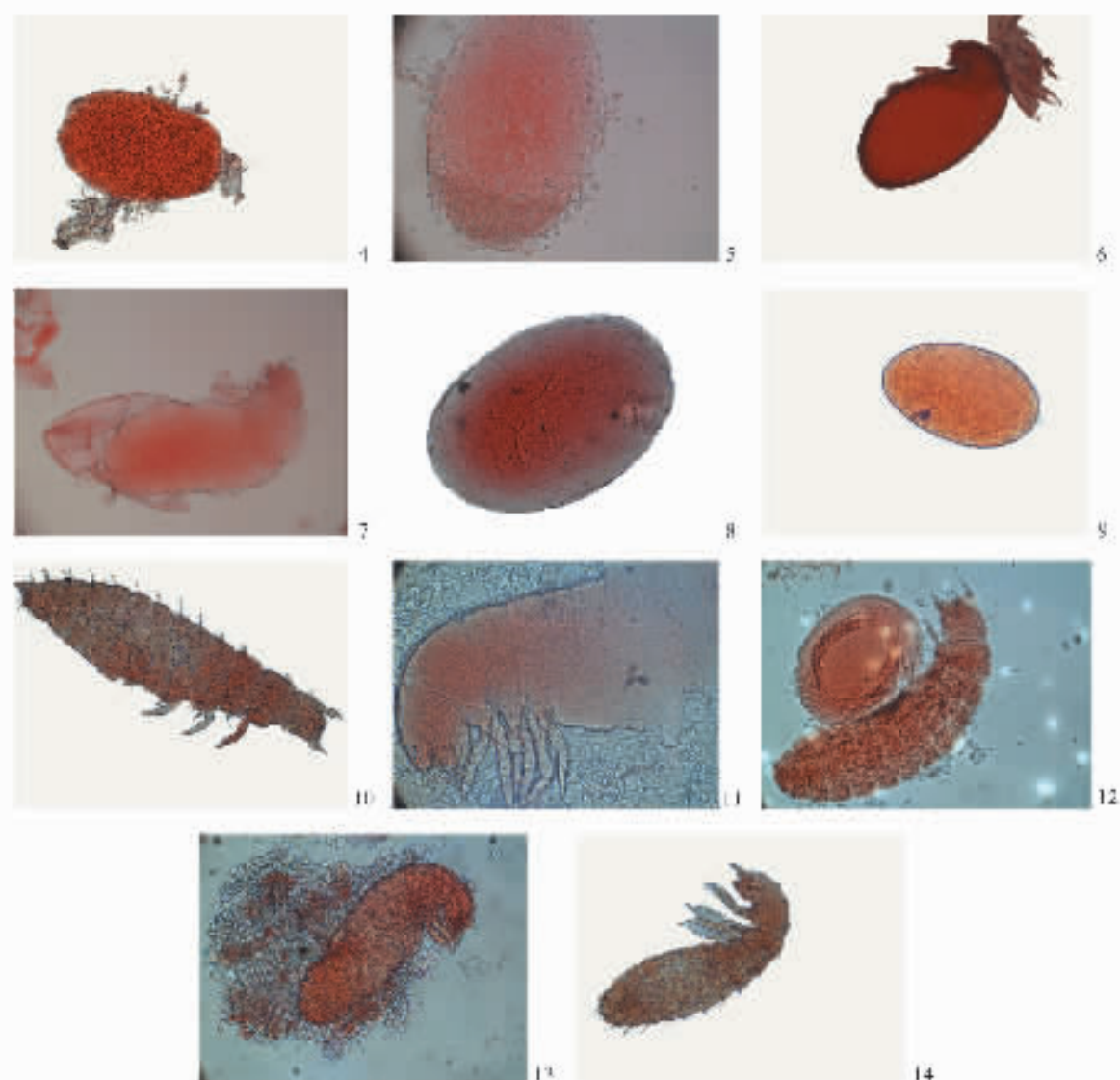


图4: 发育4h的赤拟谷盗卵的整个, 卵表面有卵膜黏附; 图5: 发育60h的赤拟谷盗卵的整个图, 卵的一端明显出现分化; 图6: 发育76h的赤拟谷盗卵, 已剥去卵壳有卵膜黏附; 图7: 发育92h赤拟谷盗卵的整个图, 幼虫破壳而出; 图8: 丁香处理的已发育12h赤拟谷盗卵的外形图; 图9: 丁香处理的已发育36h的赤拟谷盗卵, 有卵膜; 图10: 丁香处理的已发育36h的赤拟谷盗卵的发育情况, 无卵膜; 图11: 丁香处理的已发育60h的赤拟谷盗卵的发育, 有卵膜; 图12: 丁香处理的已发育60h的赤拟谷盗卵的发育情况, 无卵膜; 图13: 丁香处理的已发育84h的赤拟谷盗卵的发育情况, 有卵膜; 图14: 丁香处理的已发育84h赤拟谷盗卵的发育情况, 无卵膜。

Fig.4 The whole egg of *T. castaneum*, developed for 4 h, sticked with vitelline membrane. Fig.5 The whole egg of *T. castaneum* developed for 60 h, differentiated on the one of egg end. Fig. 6 The *T. castaneum* egg developed for 76 h, sticked with vitelline membrane. Fig.7 The whole egg of *T. castaneum* developed for 92 h, the larva hatching. Fig.8 The whole egg of *T. castaneum* developed for 12 h, treated with clove, with vitelline membrane. Fig.9 The *T. castaneum* egg developed for 36 h, treated with clove, with vitelline membrane. Fig.10 The *T. castaneum* egg developed for 36 h, treated with clove, without vitelline membrane. Fig.11 The *T. castaneum* egg developed for 60 h, treated with clove, with vitelline membrane. Fig.12 The *T. castaneum* egg developed for 60 h, treated with clove, without vitelline membrane. Fig.13 The whole egg of *T. castaneum* developed for 84 h treated with clove, with vitelline membrane. Fig.14 The *T. castaneum* egg developed for 84 h treated with clove, without vitelline membrane.