

胸窗萤幼虫对灰巴蜗牛的捕食机制初探^{*}

方立¹ 杨江伟² 王佳璐¹ 朱景全³ 付新华^{1**}

(1. 湖北省昆虫资源利用与害虫可持续治理重点实验室 华中农业大学植物科学技术学院 湖北 430070;

2. 山东华阳科技股份有限公司 泰安 271411; 3. 全国农业技术推广服务中心 北京 100125)

摘要 本文对胸窗萤 *Pyrocoelia pectoralis* Oliver 4 龄幼虫捕食灰巴蜗牛 *Bradybaena ravida* Benson 的机制进行了初步探索。通过解剖幼虫消化道进行观察,发现幼虫的食道在与上颚基部骨化结构相连处分为 2 支,呈 Y 型结构,分别与 2 个上颚的中空管道相通;无毒腺结构存在。将幼虫头部及消化道各部分提取液注射到灰巴蜗牛体内后发现中肠提取液对蜗牛的致死效果显著高于头部和消化道其它部分提取液对蜗牛的致死效果 ($df = 68, P < 0.05$),比较不同浓度中肠提取液对蜗牛致死效果的差异后发现,浓度为 5 mg/mL 的中肠提取液对蜗牛的致死时间 (15.96 ± 4.48) min 与幼虫正常捕食的时间 (14.47 ± 2.32) min 最为相近。

关键词 萤火虫, 胸窗萤, 捕食, 消化道提取液, 致死作用

Preliminary investigation of predation of the snail *Bradybaena ravida* by larvae of the firefly *Pyrocoelia pectoralis*

FANG Li¹ YANG Jiang-Wei² WANG Jia-Lu¹ ZHU Jing-Quan³ FU Xin-Hua^{1**}

(1. Hubei Insect Resource Utilization and Sustainable Pest Management Key Laboratory, College of Plant Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; 2. Shandong Huayang Technology Co., Ltd, Tai'an 271411, China; 3. National Agricultural Technology Extend and Service Center, Beijing 100125, China)

Abstract In order to explore the mechanism of predation of the snail *Bradybaena ravida* Benson by larvae of the firefly *Pyrocoelia pectoralis* Oliver, fourth instar larvae were dissected to observe the structure of the larval digestive tract. The larval gullet was separated into two branches near the ossified structure at the base of the mandibles and connected with both tubular canals in the mandibles. No poison gland was found. *B. ravida* which were injected with larval midgut extract survived for a significantly shorter period than those injected with larval head extracts or extracts from other parts of the digestive tract ($df = 68, P < 0.05$). The survival time of snails injected with 5 mg/mL of larval midgut extract (15.96 ± 4.48) min was the most similar to the normal duration of predation of these snails by *P. pectoralis* larvae (14.47 ± 2.32) min.

Key words firefly, *Pyrocoelia pectoralis*, predation, extract of digestive tract, lethal effect

萤火虫属于鞘翅目萤科 (Coleoptera: Lampyridae) 昆虫,目前已知的萤火虫约有 2 000 多种,广泛分布于温带、亚热带和热带地区,其中水生萤火虫种类较少,大多数为陆生萤火虫 (Harvey, 1952; McDemott, 1964; Lloyd, 1966, 1971)。水生萤火虫的幼虫多捕食淡水螺类,而很多螺类都是寄生虫的中间宿主 (Fu *et al.*, 2005, 2006); 陆生萤火虫的幼虫则是蜗牛、蛞蝓等农业

害虫的天敌 (Wang and Fu, 2007), 具有捕吸式口器,它们攻击蜗牛或蛞蝓时,会利用上颚进行攻击,释放毒素使猎物失去行动能力,然后再释放具有消化作用的物质进行体外消化后,将猎物通过上颚吸入体内,这与草蛉的捕食模式相类似 (秦利鸿和付新华, 2009)。

本文研究的胸窗萤 *Pyrocoelia pectoralis* Oliver, 广泛分布于湖北武汉、鄂州、宜昌、秭归、孝感等

* 资助项目:中央高校基本科研业务费专项资金 (2011PY054) 和国家自然科学基金 (编号:31172137)。

**通讯作者, E-mail: fireflyfx@mail.hzau.edu.cn

收稿日期:2011-12-12, 接受日期:2012-03-27

地,主要食物是灰巴蜗牛 *Bradybaena ravid*a Benson 和同型巴蜗牛 *Bradybaena simil*aris Férussac (Wang and Fu, 2007)。秦利鸿和付新华(2009)曾详细描述了胸窗萤幼虫的捕食行为和头部的功能性结构;王余勇(2007)用圆形分布法定量描述了胸窗萤幼虫对蜗牛的搜索行为。作者在实验室中观察发现,胸窗萤幼虫捕食蜗牛时,会先使用尾部的粘附器官将虫体固定在蜗牛壳上,随后用发达的上颚不断叮咬蜗牛,此时蜗牛会通过分泌粘液并剧烈摆动身体以抵御胸窗萤幼虫的攻击,幼虫持续攻击 15 min 左右,蜗牛即丧失行动能力,同时体表颜色逐渐变为暗黄色,显示其已死亡,此时幼虫再将上颚插入蜗牛体内并注入消化液取食猎物,整个取食过程将持续 2 d 左右。这种捕食行为让我们产生了疑问,胸窗萤幼虫体内是否存在能够合成并分泌毒素的毒腺?这种毒素对猎物的致死效果如何?为了解开这些问题,本文通过解剖胸窗萤幼虫的消化道并研究头部及消化道提取液对蜗牛的致死作用,对幼虫捕食蜗牛的机制进行初步探讨。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

胸窗萤采用实验室内饲养种群,将幼虫饲养至 4 龄后挑出备用。灰巴蜗牛采集于武汉市先建村中的草地与灌木丛中,在实验室内挑出螺壳直径在 15 ~ 18 mm 的灰巴蜗牛备用。

1.2 幼虫消化道结构的解剖观察

选取胸窗萤 4 龄幼虫进行解剖,将幼虫投入 75% 的酒精杀死后,固定于装有生理盐水(配方:NaCl 0.65 g; KCl 0.25 g; CaCl₂·2H₂O 0.03 g; NaHCO₃ 0.02 g; 蒸馏水 100 mL)的蜡盘上,用解剖剪从幼虫腹面打开虫体后,将头部的骨化结构和肌肉组织去除,仅留下上颚,观察幼虫上颚与食道的连接方式,并寻找毒腺结构;将连有上颚的消化道整体取出,观察消化道整体结构;将幼虫的上颚剪下后,放置于 1% 的 NaOH 煮沸 1 min 溶液中去除残留组织,在体式镜下观察骨架结构;使用 Nikon D300 相机拍照记录观察结果。

1.3 幼虫消化道提取液对蜗牛的致死作用

选取健壮的胸窗萤 4 龄幼虫 30 只,放置于 -20℃ 冰箱中处理 30 s,将冻晕的幼虫取出并用

解剖针固定于蜡盘上,使用解剖剪从腹面打开幼虫虫体,将连有幼虫头部的消化道整体取出,使用生理盐水将消化道表面的血液冲洗干净后,用解剖剪将幼虫头部、前肠、中肠和后肠部分分别剪下置于 2.8 cm × 2.8 cm × 2.8 cm 的方形塑料盒中,使用电子天平称重后,将各部分组织分别转移至 4 个研钵中,加生理盐水充分研磨后,用生理盐水将组织研磨液配制为 5 mg/mL 的悬浊液。使用离心机将幼虫消化道各部分研磨液以 3 000 r/min 的速度离心 15 min 后取出,用微量进样器分别量取 5 μL 各部分研磨液的上清液注射进灰巴蜗牛腹部与螺壳连接处,注射深度为 2 mm,以生理盐水注射液和空针注射(仅以进样器针头刺入蜗牛体内)作为对照,观察注射后蜗牛的生理状态,若其对针扎刺激无收缩反应且身体呈暗黄色,可视为蜗牛已死亡,记录此时蜗牛的死亡率和死亡时间,每份研磨液使用 30 只灰巴蜗牛进行重复实验。

1.4 不同浓度的幼虫中肠提取液对蜗牛的致死作用

选取健壮的胸窗萤 4 龄幼虫 30 只,放置于 -20℃ 冰箱中处理 30 s,将冻晕的幼虫取出并用解剖针固定于蜡盘上,使用解剖剪从腹面打开幼虫虫体,将中肠完整取出,用电子天平称重后,将中肠组织放入研钵中加生理盐水充分研磨后,用生理盐水将组织研磨液分别配制为 10、5、3、1 和 0.5 mg/mL 5 个浓度梯度。使用离心机将不同浓度梯度研磨液以 3 000 r/min 的速度离心 15 min 后取出,用微量进样器分别量取 5 μL 不同浓度研磨液的上清液注射进灰巴蜗牛腹部与螺壳连接处,注射深度为 2 mm,观察注射后蜗牛的生理状态,若其对针扎刺激无收缩反应且身体呈暗黄色,可视为蜗牛已死亡,记录此时蜗牛的死亡率和死亡时间,比较不同浓度中肠研磨液对蜗牛致死作用的差异,每份研磨液使用 30 只灰巴蜗牛进行重复实验。同时将 15 只饥饿 3 d 的胸窗萤幼虫单头放置于 7 cm × 7 cm × 6 cm 的饲养盒中,喂食螺壳直径在 15 ~ 18 mm 的活体灰巴蜗牛,观察其捕食情况,记录从幼虫攻击开始到蜗牛死亡的时间作为对照,并比较与不同浓度梯度的中肠研磨液对蜗牛的致死时间之间的差异。

1.5 数据分析

采用 MS EXCEL 和 SAS(The SAS System for

Windows V8)软件对实验数据进行卡方检验和单因素方差分析。重复数据计算算数平均值和标准差。

2 结果与分析

2.1 幼虫消化道的结构

对消化道的解剖观察发现,幼虫具有发达的上颚,上颚末端尖锐,具有中空的结构(图 1:A)。食道与上颚基部直接相连,无毒腺结构,食道在上颚基部分为 2 条管道,呈 Y 字结构,分别与上颚的 2 个中空管状的凹槽结构相连,幼虫具有发达的中肠组织,前肠和后肠部分较短(图 1:B)。

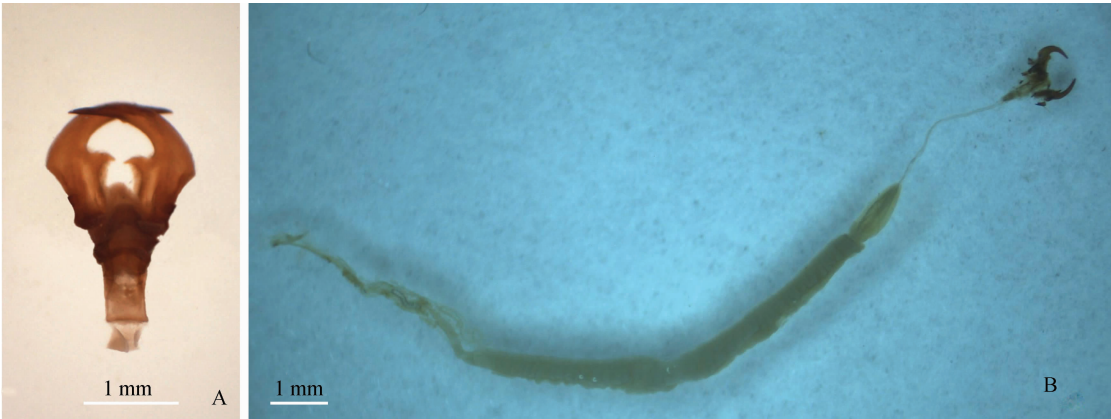


图 1 胸窗萤幼虫消化道和上颚骨架结构
Fig.1 Structure of digestive tract and mandibles of *Pyrocoelia pectoralis* larvae
A. 幼虫上颚骨架 ossified structure of larval mandibles; B. 幼虫的上颚与消化道 larval digestive tract and mandibles; 标尺 scales bar = 1 mm.

2.2 幼虫消化道提取液对灰巴蜗牛的致死作用

将微量进样器针头扎入巴蜗牛体内后,蜗牛会分泌大量黏性液体和泡沫,同时身体缩入壳内,注射生理盐水和空针对照组蜗牛在缩入壳内数秒后就会重新尝试将身体伸出壳外,而注射了消化道各部分提取液的蜗牛动作则相对迟缓,部分蜗牛仅将身体的一小部分伸出壳外,约 5 min 后,注射了消化道提取液的蜗牛对外界针刺反应迟钝,已无法完成将身体缩回壳内的正常防御动作,显示其正常的运动功能已经受到了损害。实验结果表明,胸窗萤头部、前肠、中肠和后肠的研磨液均对供试的灰巴蜗牛有显著的致死作用,注射了头部、前肠、中肠、后肠研磨液的各组与仅注射生理盐水和空针对照组间蜗牛的死亡数量具有显著差异,其中注射了中肠研磨液的蜗牛死亡率最高,而头部和消化道各部分研磨液对蜗牛的死亡数量则没有显著差异(图 2)。从蜗牛的死亡时间来看,注射中肠研磨液的蜗牛的死亡时间显著短于其他各组(图 3)。

2.3 不同浓度的幼虫中肠提取液对蜗牛的致死

作用

使用微量进样器将不同浓度的胸窗萤幼虫中肠提取液注射到蜗牛体内,通过观察蜗牛死亡数量和死亡时间后发现,随着中肠提取液浓度的递增,对蜗牛的致死效果也不断增强。实验结果表明,1、3、5 和 10 mg/mL 4 个浓度梯度间蜗牛的死亡数量没有显著差异,而 0.5 mg/mL 的中肠提取液杀死蜗牛的数量显著少于其他 4 个处理组(图 4)。从蜗牛的死亡时间来看,5 个浓度梯度之间蜗牛的死亡时间均存在显著差异,其中,注射了 10 mg/mL 中肠提取液的处理组蜗牛死亡时间最短(图 5),5 mg/mL 中肠提取液处理组蜗牛的死亡时间最接近于胸窗萤正常捕食状态下蜗牛的死亡时间。

3 讨论

Copeland(1981)研究了北美 *Photuris* 属的 3 种萤火虫幼虫消化道提取液及血淋巴对蛞蝓的致死作用,通过使用 EKG 监测蛞蝓的心跳后发现,血淋巴和消化道不同部位的提取液会对蛞蝓的心

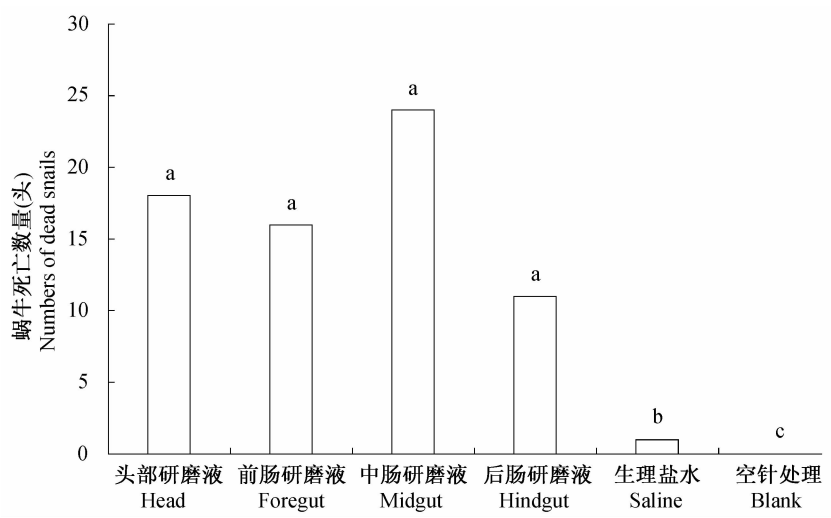


图 2 胸窗萤幼虫头部及消化道研磨液对蜗牛致死作用的比较

Fig. 2 Lethal effect on snail of firefly *Pyrocoelia pectoralis* larval head and digestive tract grinding fluid

柱上标有不同字母表示经卡方检验差异显著。

Histograms with different letters indicate significantly different at 0.05 level by chi-square test.

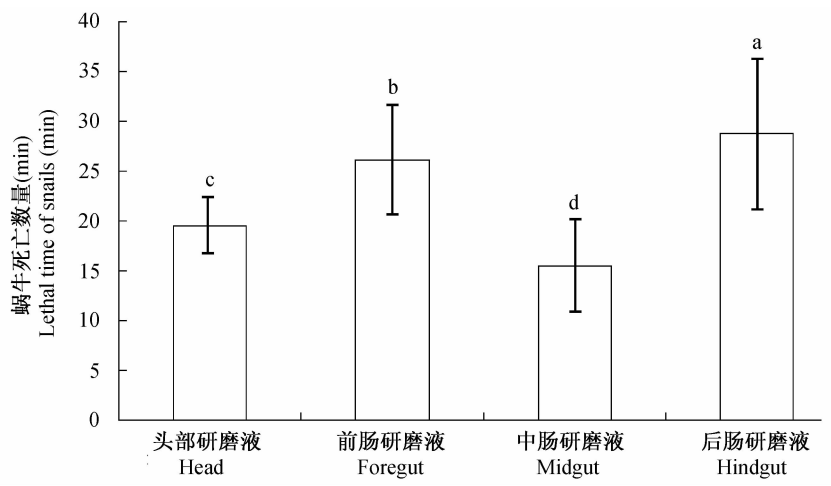


图 3 胸窗萤幼虫头部及消化道研磨液对蜗牛致死时间的差异

Fig. 3 Lethal time differences of snail by treating with firefly *Pyrocoelia pectoralis* larval head and digestive tract grinding fluid

柱上标有不同字母表示经单因素方差分析差异显著。

Histograms with different letters indicate significantly different at 0.05 level by One-Way ANOVA analysis.

跳起到抑制的作用,其中,以血淋巴和中肠提取液对蛞蝓心跳的抑制作用最强。我们对于胸窗萤幼虫的研究同样发现幼虫的头部和消化道提取液对其猎物蜗牛具有致死作用,通过对注射了头部和消化道不同部位提取液的蜗牛的平均死亡时间进行比较,我们发现中肠提取液对蜗牛的致死效果最佳,这与 Copeland(1981)对 *Photuris* 属萤火虫幼

虫消化道不同部位的提取液对蛞蝓的致死作用时得到的结果一致,但在本试验中,我们并没有提取胸窗萤幼虫的血淋巴进行蜗牛的致死性实验,因此暂无法判断消化液中的有效致死成分是否同样存在于血淋巴中,这有待我们在下一步的实验中继续研究。

Jones(1975)的研究表明,软体动物的运动是

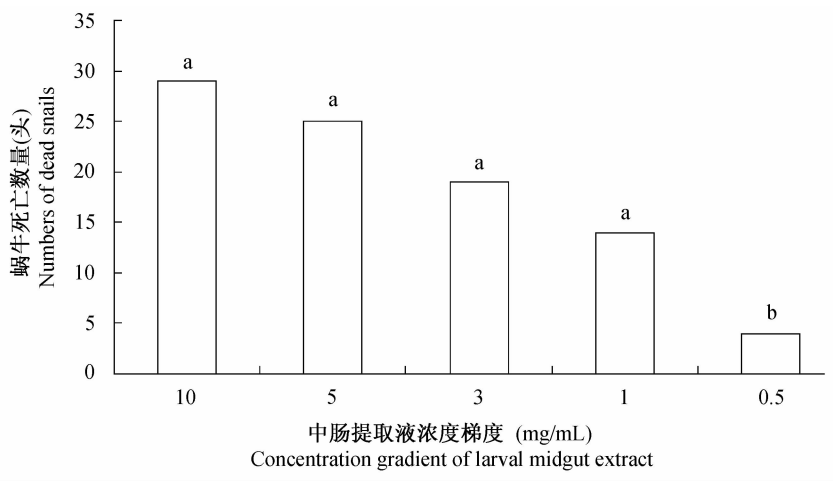


图 4 不同浓度的胸窗萤幼虫中肠提取液对蜗牛致死作用的比较

Fig.4 Lethal effect on snail of various concentration gradient of firefly *Pyrocoelia pectoralis* larval midgut extract

柱上标有不同字母表示经卡方检验差异显著。

Histograms with different letters indicate significantly different at 0.05 level by chi-square test.

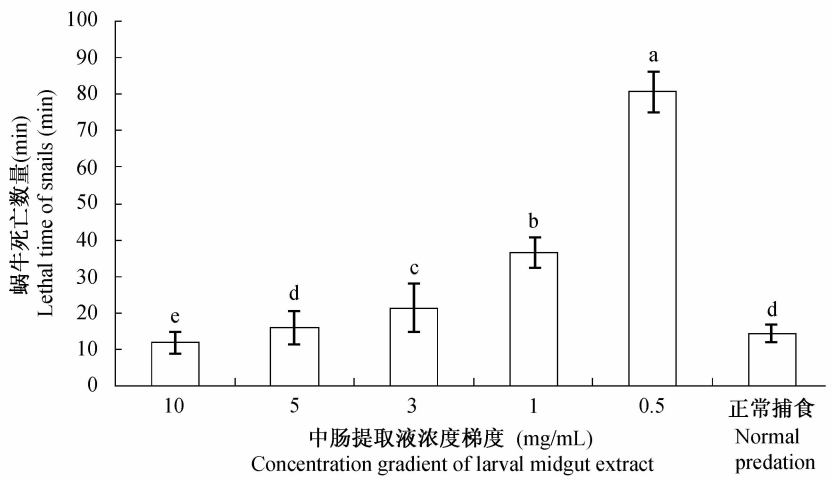


图 5 不同浓度的胸窗萤幼虫中肠提取液对蜗牛致死时间的差异

Fig.5 Lethal time differences of snails by treating with various concentration gradient of firefly *Pyrocoelia pectoralis* larval midgut extract

柱上标有不同字母表示经单因素方差分析差异显著。

Histograms with different letters indicate significantly different at 0.05 level by One-Way ANOVA analysis.

通过心脏维持体内一定的体液压力及不断分泌粘液完成的,心脏搏动功能的受损会直接影响其运动的能力。Copeland(1981)的研究则直接证明了幼虫消化道提取物和血淋巴中存在这种通过作用于猎物心脏使其瘫痪甚至死亡的毒素。但是,胸

窗萤幼虫消化道提取液的作用机制是否同样是通过抑制猎物的心脏跳动以达到致死的效果,提取液中具有致死作用的有效组分有哪些,这些问题值得我们通过深入研究进一步探讨。

综上所述,胸窗萤幼虫通过复杂的搜索行为

找到蜗牛后,通过锋利的上颚将消化道内的消化液注射到蜗牛体内,我们推测其中含有能够使蜗牛瘫痪甚至死亡的毒素成分,但这种成分是否对其他动物如昆虫等具有同样的效果,则需要我们今后进一步研究。

参考文献 (References)

Fu XH, Nobuyoshi O, Vencel FV, Lei CL, 2005. Structure, behavior and the life cycle of an aquatic firefly, *Luciola substriata*, in China. *Can. Entomol.* , 137(1):83 – 90.

Fu XH, Nobuyoshi O, Vencel FV, Lei CL, 2006. Life cycle and behavior of aquatic firefly, *Luciola leii* from mainland China. *Can. Entomol.* , 138(6):860 – 870.

Jones HD, 1975. Locomotion. London: Academic Press. 1 – 32.

Harvey EN, 1952. Bioluminescence. New York: Academic. 649.

Copeland J, 1981. Effects of larval firefly extracts on molluscan cardiac activity. *Experientia*, 37:1271 – 1272.

Lloyd JE, 1966. Studies on the Flash Communication System in *Photinus fireflies*. University of Michigan Museum of Zoology, Miscellaneous Publication. 1 – 93.

Lloyd JE, 1971. Bioluminescent communication in insects. *Annu. Rev. Entomol.* , 16: 97 – 122.

McDemott FA, 1964. Glow-worms in a marine littoral habitat in Jamaica (Coleoptera: Lampyridae). *Entomol. News*, 64 (4):89 – 90.

Wang YY, Fu XH, 2007. Biological characteristics of the terrestrial firefly *Pyrocoelia pectoralis*. *Coleopt. Bull.* , 61 (1):85 – 93.