郭子坤,张国云,李怡萍,等.电子显微技术在昆虫学研究中的应用及进展[J].山西农业大学学报(自然科学版),2024,44(6):36-47.
Guo Z K, Zhang G Y, Li Y P, et al. Application and advances of electron microscopy techniques in insect research[J]. Journal of Shanxi Agricultural University(Natural Science Edition), 2024,44(6):36-47.
doi: 10.13842/j.cnki.issn1671-8151.202407030

电子显微技术在昆虫学研究中的应用及进展

郭子坤[1],张国云[2],李怡萍[1],袁向群[1*]

(1.西北农林科技大学 植物保护学院,陕西 杨凌 712100;
2.西北农林科技大学 旱区作物逆境生物学国家重点实验室,陕西 杨凌 712100)

摘　要:本文概述了电子显微镜的结构、分类与用途,并简介透射电子显微镜、扫描电子显微镜、反射电子显微镜和发射电子显微镜的工作原理,综述电子显微技术在昆虫触角、单眼与复眼、口器、发声器、外生殖器、不同虫态体表特征、内部器官、分类以及病理学等方面的应用与研究进展。基于对已有文献的综合分析,提出建议:在条件许可的情况下,今后的昆虫学研究应拓展视野,引入冷冻电子显微镜技术;开发可对活体昆虫进行电子显微学观察的技术与方法,使研究工作更加切合实际;在注重超微结构研究的同时,协同采用电化学、酶学与放射性示踪等技术手段,探明昆虫各种感器、发声器、生殖器超微结构与生理功能的关系,为有害昆虫的综合防控与资源昆虫的开发利用提供支持。

关键词:电子显微学; 技术; 昆虫学; 应用及进展
中图分类号:Q96;TB302.1　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1671-8151(2024)06-0036-12

世界上首台透视电子显微镜由恩斯特·卢斯卡和马克斯·克诺尔于1931年研制成功,此后电子显微技术快速发展并广泛应用于科学研究中。尤其在材料学[1-2]、医学[3-4]、植物学[5-6]与动物学[7-8]等领域,电子显微技术协助研究人员取得一系列科研成果。电子显微技术在昆虫学研究中也被大量采用,研究者通过选取不同种类的昆虫,制作不同组织或器官的电镜切片,选择相应的电子显微镜开展微观结构观察,在不同的方向均取得有价值的研究结果。然而,该技术在昆虫学领域的应用及研究进展鲜有报道。

鉴于此,本文对国内外有关在昆虫学研究中涉及电子显微技术的文献作了归纳分析,总结该技术在昆虫触角[9-11]、单眼与复眼[12-14]、口器[15-17]、发声器[18-20]、外生殖器[21-23]、不同虫态体表特征[24-27]、内部器官[28-30]、分类[31-33]以及病理学[34-35]等方面的应用结果。通过分析探讨,提出现有研究中存在的不足之处及解决方法,期望本研究的结果能对后续研究者有所借鉴。

1　电子显微技术的类型

电子显微技术是一种利用高分辨率和高放大倍率的电子显微镜对观测对象进行特征分析(如超微结构观察、能量色散X射线谱分析)的技术,该技术通过不同用途与成像原理的电子显微镜实现。

电子显微镜有3个组件,分别是镜筒、真空装置和电源柜[36]。其中主要组件为镜筒,呈柱状,内含电子源、电子透镜、样品架、荧光屏和探测器等。电子透镜相当于光学显微镜中的玻璃透镜,只不过它不是聚焦可见光,而是用作聚焦电子束,电子透镜有磁透镜和静电透镜2种。电子源则包括释放自由电子的阴极、栅极与环状加速电子的阳极。样品架既可固定样品,还可通过移动、转动、加热、降温、拉长等改变样品的状态。荧光屏作用是将电子影像转化为可见光影像,以供研究者观察。探测器用以收集电子信号或次级信号。真空装置提供了显微镜内的真空状态,使得电子束在其路径上不会被吸收或偏转,它由机械真空泵、扩散泵

收稿日期:2024-07-09　　**修回日期**:2024-09-26
基金项目:国家自然科学基金(32270486)
作者简介:郭子坤(ORCID:0009-0000-0264-3163),硕士研究生,研究方向:农业昆虫与害虫防治,E-mail:guokk1217@163.com
*通信作者:袁向群(ORCID:0000-0002-6101-7151),研究员,研究方向:昆虫系统学,E-mail:yuanxq@nwsuaf.edu.cn

和真空阀门等组成,并通过抽气管道与镜筒相联接。电源柜由高压发生器、励磁电流稳流器和各种调节控制单元组成。一般按结构、用途与成像原理,电子显微技术可分为透射式、扫描式、反射式和发射式4种形式。

1.1　透射式电子显微技术

透射式电子显微技术是通过透射式电子显微镜来实现,此镜成像是由电子枪发射出高速电子束,经过1～2级聚光镜会聚后均匀照射到样品的某一待观察微小区域,入射电子与样品发生碰撞与非碰撞,由于样品极薄(电子的穿透能力很弱,因此样品必须极薄),大部分电子穿透样品,其强度分布与所观察样品区的超微形态、组织、结构一一对应。透射出样品的电子经过物镜、中间镜和投影镜的三级磁透镜放大投射在观察图像的荧光屏上,荧光屏把电子强度分布转化为人眼可见的光强分布,于是在荧光屏上显出与样品超微形态、组织、结构相应的图像,以供观察[37]。透射式电子显微镜因电子束穿透样品后,再用电子透镜成像放大而得名,所以主要用于观察记录样品的三维空间结构。当电子束穿透样品时,难免会对其微观结构造成损伤,一般采用负染色法来减轻损伤,即在可接触的分子表面涂上含有重原子的试剂,但图像分辨率较低。1974年,Taylor和导师Glaeser[38]首次发现冷冻于低温下的生物样品可以在真空的透射电镜内耐受高能电子束辐射并保持高分辨率结构,由此开启了冷冻电子显微技术的研发之路。冷冻电子显微技术也叫冷冻电镜技术,本质上是在低温下(常在液氮或液氦中进行冷冻)使用透射电子显微镜观察样品的显微技术。

1.2　扫描式电子显微技术

扫描式电子显微技术实施的仪器为扫描式电子显微镜,该镜是利用聚焦高能电子束在样品表面逐步扫描,激发样品产生各种物理信号,随后根据各种信号的产额大小,将信号放大,以明暗相间的图像形式表现,从而呈现样品表面特征[39]。由于这种显微镜中电子不必透射样本,因此对电子束加速的电压要求不是非常高。从成像原理可见,扫描式电子显微技术主要用于观察与研究固体表面的超微结构。

1.3　反射式电子显微技术

反射式电子显微技术的运用离不开反射式电子显微镜,它是通过电子束以一定的掠射角打击样品表面,表面不同部位的散射(反射)电子聚焦在透镜后不同位置,沿Z轴移动样品可将选定的样品部位聚焦在选定的像平面上产生样品表面像和反射高能电子衍射花样。所以反射式电子显微技术可用于材料的表面结构、电子态密度以及化学成分等信息的获取。比如,获取材料的晶体结构、晶格常数等信息,晶片表面缺陷、杂质分布的检测等,以及生物组织和细胞表面超微结构的观察[36]。

1.4　发射式电子显微技术

发射式电子显微技术利用二次电子或背散射电子成像,对样品表面放大一定的倍数,实现超微形态观察。同时,利用电子激发出样品表面的紫外线、同步辐射、特征X射线对微区成分进行定性与定量分析。携带信息的电子束发射来自样品,造成电子发射的能量源可以是热(热离子发射)、光(光电子发射)、离子或中性粒子,但不包括场发射和其他涉及点源及尖端的发射[40]。该技术是一种表面敏感技术,因为发射的电子来自被观测样品的浅层,适用于样品表面微观结构的观测。

昆虫学研究文献中大多采用扫描式电子显微技术和透射式电子显微技术,反射式电子显微技术和发射式电子显微技术极少见到。

2　电子显微技术在昆虫学中的应用

2.1　昆虫触角的超微结构

昆虫触角的超微结构研究主要针对其表面各种感器的形态观察与分类而展开,由于感器都位于触角的表面,一般使用扫描式电子显微技术进行结构分析。

十余年来学者对曲纹稻弄蝶(*Parnara ganga*)[9]、小黄鳃金龟(*Metabolus flavescens*)[10]、小黑棕金龟(*Apogonia chinensis*)[10]、毛黄鳃金龟(*Holotrichia trichophora*)[11]、赤绒鳃金龟(*Maladera verticalis*)[11]和黑绒鳃金龟(*Maladera orientalis*)[11]、桃蛀螟(*Conogethes punctiferalis*)[41]、梨小食心虫(*Grapholita molesta*)[41]和桃白小卷蛾(*Spilonota albicana*)[41]、小菜蛾(*Plutella xylostella*)[42]、美国白蛾(*Hyphantria cunea*)[43]、绿翅绢野螟(*Diaphania angustalis*)[44]、*Earias vittella*[45]、棉铃虫(*Helicoverpa armigera*)[46]和枸杞线角木虱(*Bactericera gobica*)[47]等的触角感器做了深入研究(表1)。

表1 不同昆虫的触角感器

Table 1 Antennal sensilla of different insects

昆虫种类 Insect species	感器 Sensilla			参考文献 Reference
	类型数 No. of types	类型 Types	亚型 Subtype	
曲纹稻弄蝶(成虫)	6	SSq、ST、SCh、SAu、SCo和BB	SCoⅠ、SCoⅡ	[9]
小黄鳃金龟(成虫)	6	ST、SCh、SB、SCo、SPl和BB		[10]
小黑棕金龟(成虫)	7	ST、SCh、SB、SCo 、SPl、SCp和BB		[10]
毛黄鳃金龟(成虫)	6	ST、SCh、SB、SPl、SCo和BB	SCoⅠ、SCoⅡ	[11]
赤绒鳃金龟(成虫)	4	ST、SCh、SB和BB		[11]
黑绒鳃金龟(成虫)	4	ST、SCh、SB和BB		[11]
桃蛀螟(成虫)	9	ST、SCh、SB、SAu、SSq、SS、SCo、SCa和BB	STⅠ、STⅡ、SSⅠ、SSⅡ、SCoⅠ、SCoⅡ	[50]
梨小食心虫(成虫)	8	ST、SCh、SB、SAu、SSq、SS、SCo和BB	STⅠ、STⅡ、SSⅠ、SSⅡ	[41]
桃白小卷蛾(成虫)	8	ST、SCh、SB、SAu、SSq、SS、SCo和BB	STⅠ、STⅡ、SSⅠ、SSⅡ	[41]
小菜蛾(幼虫)	3	SB、SCh和SS		[42]
小菜蛾(成虫♂)	7	ST、SCh、SCo 、SS、SSq、SB和BB		[42]
小菜蛾(成虫♀)	6	ST、SCh、SCo、SS、SSq和BB		[42]
美国白蛾(成虫)	7	SSq、SB、ST、SCh、SCo、SS和BB	ST1、ST2和ST3	[43]
绿翅绢野螟(成虫)	8	ST、SCh、SCo、SAu、SS、SSq、SBc和BB	SCh Ⅰ、SCh Ⅱ	[44]
Earias vittella(成虫)	9	ST、SB、SCo、SAu、SCh、SUp、SS、SSq和BB		[45]
棉铃虫(成虫)	8	ST、SB、SAu、SCo、SCh、SS、SSq和BB		[46]
枸杞线角木虱(成虫)	7	Se、SB、SCa、SCh、SC、ST和AR	SBⅠ、SBⅡ、SCh Ⅰ、SCh Ⅱ、SC Ⅰ SC Ⅱ、ARⅠ、ARⅡ	[47]

注:SSq为鳞型感器,ST为毛型感器,SCh为刺型感器,SAu为耳型感器,SCo为腔锥型感器,SB为锥型感器,SPl为板型感器,SCp为腔乳头型感器,SS为栓锥型感器,SCa为钟型感器,SBc栓锥型乳突状感器,SUp单孔栓型感器,Se为刚毛,SC为腔型感器,AR为感觉圈,BB为Böhm′s鬃毛。Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ用以区分亚型。下表同

Note:SSq. Sensilla squamiformia,ST. Sensilla trichoidea,SCh. Sensilla chaetica,SAu. Sensilla auricillica,SCo. Sensilla coeloconica,SB. Sensilla basiconica,SPl. Sensilla placodea,SCp. sensilla cavitata-peg,SS. Sensilla styloconica,SCa. Sensilla campaniformia,SBc. Sensilla basiconic capitate peg,SUp. Sensilla uniporous peg,Se. Setae,SC. Sensilla cavity,AR. Antennal rhinaria,BB. Böhm′s bristles. Ⅰ, Ⅱ, Ⅲ and Ⅳ are used to distinguish subtypes. The same below

由表1可见,昆虫幼虫触角感器类型较少,成虫触角感器类型较多,以6~8种居多。其中,毛型感器、刺型感器、耳型感器、腔锥型感器、鳞型感器与Böhm′s鬃毛为最常见;有些感器又可分为2~3种不同的亚型。

目前,推测触角感器可以对机械力、温度、信息素分子等加以识别。比如,感器对外界碰触、空气流动、空气湿度、大气压力等的感触属于对机械力信息的识别范畴,机械力与环境温度信息应该作用于感器后引发感器上神经兴奋,由神经纤维直接将信息传至神经中枢。信息分子则通过感器进入昆虫血液,与受体蛋白结合,通过神经元将化学信息转换为神经信息,最终传至神经中枢,所以识别信息分子的感器多属于嗅觉感器。随着技术手段的进步,今后对不同感器信息接受与传递路径与机理的了解一定会越来越详尽。另外,对昆虫触角节间连接的超微结构研究很少见到,这对触角在空间的移动及姿势调整的机理探讨意义重大,其结果有仿生学价值。

2.2 昆虫单眼与复眼的超微结构

2016年,陈庆霄等[12]研究了蝎蛉科(Panorpidae)大双角蝎蛉(*Dicerapanorpa magna*)幼虫复眼的超微结构,其幼虫复眼属于并列像眼,含50多个小眼。每个小眼由1个角膜、1个晶体、8个视网膜细胞、2个初级色素细胞和数个次级色素细胞等组成;视网膜细胞有4个远端细胞和4个近端细胞,远端细胞的视小杆向上延伸包裹晶体的基部,使视杆末端呈漏斗状。王茁[13]于2019年报道了利用光学显微镜、扫描电子显微镜和透射电子显微镜,对玫瑰黄腹三节叶蜂(*Arge pagana*)幼虫侧单眼的

研究结果,侧单眼包含大约1000个视网膜细胞,相邻的8个或9个视网膜细胞聚成一簇,共形成大约100个视杆;含8个视网膜细胞的视杆和含9个视网膜细胞的视杆分别位于区域I和区域II,区域I位于侧单眼中央,区域II位于侧单眼后缘;在区域II的外侧分布着色素细胞束,这些色素细胞束从角膜生成细胞的远端延伸至视网膜细胞的近端。

人们对昆虫视网膜和基底基质(basal matrix,BM)下色素细胞类型的了解相对有限。2020年,Mohr等[14]在赤眼蜂(*Trichogramma evanescens*)二维透射电子显微镜切片中观察到色素细胞形成的视网膜下色素屏障,这些细胞出现在基底基质下方,并形成一个单独群体。连续切片透射电子显微镜的三维重建结果揭示,赤眼蜂的视网膜下色素屏障不是由单一细胞类型形成的,而是由穿透基底基质间隙的侧边缘色素细胞的延伸所形成。由于在赤眼蜂的基底基质上方既不存在次生色素细胞的色素延伸,也不存在锥体细胞突起延伸中的色素颗粒,因此侧缘细胞的视网膜下延伸可以被视为对小型化的功能适应,以保持近端屏障功能。2021年,Guo等[48]利用扫描和透射电子显微镜研究捕食性昆虫黑纹花蝽(*Montandoniola moraguesi*)复眼形态和超微结构,结果显示黑纹花蝽每只复眼含有约195个小眼,每个小眼都有一个直径约为9 μm、厚约7 μm的层压角膜晶状体,一个长约5.5 μm的晶体锥(形似远端大于近端的哑铃),8个长约25.6 μm的簇状视网膜细胞,2个初级色素细胞和8个次级色素细胞。8个视网膜细胞(2个细长和6个外周视网膜细胞)的横纹肌节形成1个圆形分层横纹肌节。R7和R8细胞的横纹肌节沿着锥体的基底外侧表面分布,形成1个中心融合的横纹肌瘤,几乎横跨整个小眼。外周横纹肌(R1~R6)的微绒毛呈放射状排列,在中心横纹肌内形成双叶V形。

有关昆虫单眼与复眼超微结构研究的文献较少,不同种、不同属及不同科同一虫态(幼虫或成虫)眼的超微结构比较研究更是鲜见报道。今后有望通过大量对比探究,总结昆虫单眼与复眼超微结构上的共性及不同种类眼的特性,构建单眼与复眼超微结构理论模型。另外,昆虫单眼与复眼超微结构受控基因及其表达的研究也应给予加强,若取得进展,可通过基因致盲对有害昆虫进行无公害防控。

2.3　昆虫口器的超微结构

昆虫口器有5种基本类型,即咀嚼式、嚼吸式、刺吸式、舐吸式和虹吸式,其中咀嚼式最原始,后4种均由咀嚼式演化而来。

在口器超微结构上,2008年以来,学者以梭毒隐翅虫(*Paederus fuscipes*)[15]、闪蓝束毛隐翅虫(*Dianous coeruleotinctus*)[15]、瘦突眼隐翅虫(*Stenus tenuipes*)[15]、中华蚊蝎蛉(*Bittacus sinensis*)[16]、对双委夜蛾(*Athetis dissimilis*)[17]、烟草嘎叶蝉(*Alobaldia tobae*)[49]、电光叶蝉(*Maiestas dorsalis*)[49]、*Stirellus indrus*[49]、在宽胫夜蛾(*Protoschinia scutosa*)[50]和弄蝶科17种(5亚科,16属)[51]昆虫等为对象,观察了口器上唇、内唇、下唇须、上颚、外颚叶、下颚须等部位的感器,并对其作了分类描述(表2)。由表2可见,与昆虫触角上感器相比,口器上感器类型数量较少,多数为3~5类,说明口器上感器感触的信息谱不如触角感器宽泛。除毛型感器、锥型感器、刺型感器、栓锥型感器和腔锥型感器等在触角与口器都有见到外,口器上还发现柱型感器、簇状感器、指型感器、掌型感器和棒型感器,这5类感器在触角上很少见,有必要对其生理功能进行深入研究。

2.4　昆虫发声器超微结构

2002年,谢令德等[18]对小音蟋(*Phonarellus minor*)、黄足音蟋(*Phonarellus flavipes*)和利特音蟋(*Phonarellus ritsemae*)的声锉和声齿超微结构进行了观察,结果表明,声锉中部略弯曲,声齿的不规则椭圆形为其属共有特征;拐角大小、声齿两端形状、声齿数、声齿顶缘线等特征在种间存在明显差异,而种内差异不明显。李玲等[19]于2013年利用扫描电镜观察并描述了曲纹花天牛(*Leptura arcuata*)、光肩星天牛(*Anoplophora glabripennis*)和栗山天牛(*Massicus raddei*)发音器的超微形态结构,发现雌性和雄性发声器的形态、大小、音齿数目、分布及排列等存在种间差异,3种天牛前胸背板后缘前端均生长有整齐的硬毛,这些硬毛结构在天牛的声音通讯方面起着重要作用。

2021年,Chen等[20]记录了两色姬螽(*Metrioptera bicolor*)2种翅形态的鸣声,并在扫描电子显微镜下观察了声波发生器,发现尽管2翅形态在声学信号上存在差异,但形态结构上无明显差异。2022年,Yang等[52]对柑橘凤蝶(*Papilio xuthus*)蛹的发声器形态进行了扫描电镜观察,并使用Au-

表2 不同昆虫口器上的感器

Table 2 Mouthparts sensilla of different insects

昆虫种类 Insect species	感器 Sensilla			参考文献 Reference
	类型数 No. of types	类型 Types	亚型 Subtype	
梭毒隐翅虫(成虫)	6	下颚须末节:ST、Se、SCy、SCl和SPl 下唇须末节:SB		[15]
闪蓝束毛隐翅虫(成虫)	2	下唇须前2节上:ST和SCh		[15]
瘦突眼隐翅虫(成虫)	2	下唇须前2节上:ST和SCh		[15]
中华蚊蝎蛉(成虫)	8	内唇、下颚须及下唇须:SB、ST、SCh、SFi、SPa、SCa、SCy和BB		[16]
双委夜蛾(幼虫)	5	SCh(上唇、内唇、上颚外侧、外颚叶)、SFi(内唇、下颚须)、SS(下唇须、外颚叶)、SB(下唇须、外颚叶、下颚须)、SPl(下颚须)		[17]
烟草嘎叶蝉(成虫)	3	ST、SB、SCo	STⅠ、STⅡ、SBⅠ、SBⅡ、SCoⅠ	[49]
电光叶蝉(成虫)	3	ST、SB、SCo	STⅠ、STⅡ、SBⅠ、SBⅡ、SCoⅠ	[49]
Stirellus indrus(成虫)	8	ST、SB、SCo	STⅠ、STⅡ、STⅢ、SBⅠSBⅡ、SCoⅠ	[49]
宽胫夜蛾(成虫)	5	下唇须:ST、SCa、SSq、SCh和SRl	STⅠ、STⅡ、SSⅠ、SSⅡ	[50]
弄蝶科(成虫,17种,隶属5亚科,16属)	3	SCh、SB和SS		[51]

注:SCy为柱型感器,SCl为簇状感器,SFi为指型感器,SPa为掌型感器,SRl为棒型感器。下表同

Note:SCy. Sensilla cylindrical,SCl. Sensilla cluster,SFi. Sensilla finger, SPa. Sensilla palmata,SRl. Sensilla rod-like. The same below

dacity软件分析所捕获的声音信号,结果表明,柑橘凤蝶蛹的发声器位于腹部第4、5节和第5、6节的节间膜上。发声器由具多层甲壳素的刮器和板组成,刮器和板上有50~90个突起;当蛹的腹部被寄生蜂触角刺激30 s以上时,刮器和板会迅速相互摩擦,腹部反复摆动发出声音;蛹发出的声音由一系列每2000~3000 ms发生3次的短脉冲组成,频带很宽,主要分布在5~20 kHz;新鲜蛹和越冬蛹的活性不同,声强也不同。该研究结果还支持一些蛹对寄生生物进化出一种特殊的防御机制(声学防御)的假说。通过比较2种生境柑橘凤蝶蛹的声波特征,研究者提出同一物种在不同地理区域可以产生"方言"的假说[52]。

国内外关于昆虫发声器超微结构研究的报道比较少,至于昆虫听觉器官的电镜观察文献尚未检索到。以上研究表明,研究人员不但对成虫发声器的超微结构做了研究,而且也有针对虫蛹发声器超微结构的研究。总之,绝大多数的研究是在成虫上展开,对雌雄成虫发声器超微结构进行比较,认为其结构的差异导致声音上产生显著差别。在后续研究中,应该把发声器超微结构研究成果应用于人工模拟发声器的研制上,在有害昆虫求偶期通过投放雌性人工模拟发声器达到扰乱求偶、诱集雄虫并消灭的目的。

声音的发生与声音信号的接收是一个完整的信息传播途径,所以建议把昆虫发声器与其听觉器官统一起来进行观察,研究二者在超微结构上是如何契合的。

2.5 昆虫外生殖器超微结构

洪健等[22]运用扫描电子显微技术观察虎凤蝶属中华虎凤蝶(*Luehdorfia chinensis*)、长尾虎凤蝶(*L. longicaudata*)、乌苏里虎凤蝶(*L. puziloi*)和日本虎凤蝶(*L. japonica*)雄性外生殖器,发现抱器、钩状突、阳茎、阳茎鞄片的超微结构存在差异。针对昆虫外生殖器不同部位超微细节的比较研究鲜有报道,多数文献则聚焦于外生殖器的感器,如云斑天牛(*Batocera horsfieldi*)[23]、灰地种蝇(*Delia platura*)[53]、霍氏啮小蜂(*Tetrastichus howardi*)[54]、扶桑绵粉蚧(*Phenacoccus solenopsis*)[55]和黑肩绿盲蝽(*Cyrtorhinus lividipennis*)[56]等(表3)。由表3可见,昆虫外生殖器上感器一般有2~7种,以4种的居多,其中毛型感器、锥型感器、刺型感器和栓

表3　不同昆虫外生殖器上的感器

Table 3　External genitalia sensilla of different insects

昆虫种类 Insect species	感器 Sensors			参考文献 Reference
	类型数 No. of types	类型 Types	亚型 Subtype	
云斑天牛(成虫♀)	3	SSq、SB和ST		[23]
灰地种蝇(成虫♂)	4	ST、SCh、SCa和SB	SCaⅠ、SCaⅡ、SCaⅢ	[53]
灰地种蝇(成虫♀)	2	LB和MT		[53]
霍氏啮小蜂(成虫♀)	7	ST、SCh、SP、SS、SD、LSd和SVo	STⅠ、STⅡ、SChⅡ、SSⅠ	[54]
霍氏啮小蜂(成虫♂)	6	SS、SVo、CP、Crs、SCa和ST	SSⅡ、STⅢ	[54]
扶桑绵粉蚧(成虫♂)	4	ST、SB、SCa和MT	STⅠ、STⅡ、SBⅡ、SBⅢ、SBⅣSCaⅠ、SCaⅡ、SCaⅢ、SCaⅣ	[55]
黑肩绿盲蝽(成虫♀)	4	ST、SB、SCh、SDe	STⅠ、ST II、SBⅠ、SBII	[56]
黑肩绿盲蝽(成虫♂)	7	ST、SDi、SCh、SDe、SCa、SS和SC	STⅠ、SS I、SS II	[56]

注:LB为长鬃毛,MT为微毛,SP为分泌毛孔,SD为栉齿型感器,LSd为浅凹型感器,SVo为火山型感器,CP为表皮孔,Crs为鸡冠型结构,SDe为凹型感器,SDi为二叉型感器

Note:LB: Long bristles, MT: Microtrichiae, SP: Smell pores, SD: Sensilla dentate, LSd: Light surface depression, SVo: Sensilla volcanica, CP:Cuticular pore, Crs: Cristatedstructure, SDe:Surface depression,SDi:Sensilla dichotomous

锥型感器也常见于昆虫触角与口器。为什么不同的器官上分布有同类感器?它们在触角、口器及外生殖器上的生理功能是否相同?发育是否同源?对这些问题的研究还未见报道。

2.6　昆虫不同虫态体表超微结构

齐宝瑛等[31]利用扫描电子显微镜观察了网蝽科11属18种成虫及2种若虫的体表特征,发现成虫体表存在2类感觉结构,包括几乎遍布腹部背板的小瘤突(呈半球形、锥形或短指形)和多位于背板两侧的感觉窝(呈火山口状);若虫体表没有与成虫相同的感觉结构,但2种若虫体表存在一种形似平台的结构,遍布头、前胸背板、翅芽、腹部背板,且在背板的前缘更加密集。张迎春等[57]利用扫描电镜观察研究4种昆虫鞘翅超微结构的差异,叶甲科的杨叶甲(*Chrgsomela populi*)和柳二十斑叶甲(*Chuysomela vigintip unctsta*)鞘翅体表不被毛,具凹陷,有一细毛自凹陷中伸出;瓢虫科的菱斑食植瓢虫(*Epilachna insignis*)和银莲花食植瓢虫(*Epilachna convexa*)鞘翅体表被毛,凹陷中不着生细毛。Alencar等[58]在扫描电子显微镜下观察轲蚊属(*Coquillettidia albifera*)卵的超微结构和形态计量学,发现卵呈椭圆型,前区细长,管状,长(661±2.59) μm,宽(183±2.59) μm(长宽比3.61±0.08),背表面覆盖六边型、五角型和矩型绒毛膜网络,结节随机分布。珠孔盘的直径为(18.91±0.65) μm,周围有1个厚度为(4.4±0.3) μm的连续隆起环。

表皮碳氢化合物(CHCs)是昆虫表皮的重要组成部分,直接关系昆虫的发育与生存。昆虫特异性CYP4G亚家族酶属于P450酶,催化CHCs生物合成中的氧化脱羰步骤。Wang等[59]使用RNA干扰介导的表达沉默揭示*NlCYP380C10*基因在水稻害虫褐飞虱(*Nilaparvata lugens*)表皮防水与保水中的作用,敲除*NlCYP380C10*可显著降低褐飞虱体重并导致死亡;扫描电镜结果显示,注射dsNlCYP380C10的成虫,其腹部角质层表面的脂质层丢失。Manuela等[60]则使用扫描和透射电子显微镜研究了黑水虻(*Hermetia illucens*)的幼虫和蛹角质层的超微结构,发现$CaCO_3$存在于幼龄幼虫的角质层中,主要以无定形碳酸钙的形式存在,其含量随幼虫发育而增加,$CaCO_3$的存在导致角质层硬化。幼虫和蛹的角质层含有大量的弹性蛋白,保证了角质层的柔韧性。

尽管对昆虫体表微观结构的研究涉及所有虫态,即成虫、幼虫、蛹及卵,但大多只描述体表超微特征,很少阐明昆虫体表超微结构与功能的关系。

2.7　昆虫内部器官超微结构

电子显微技术应用于昆虫内部器官的研究亦有报道。李怡萍等[29]采用电镜观察棉大卷叶螟(*Sylepta derogata*)、黄刺蛾(*Cnidocampa flave-*

scens)、玫瑰三节叶蜂(*Arge pagana*)等幼虫的气管系统,研究显示:气管结构与体壁相似,但层次相反,从气管腔的内表面开始向外,依次为表皮质内膜、管壁细胞层和底膜;表皮质内膜分为表层、上表皮层与原表皮层,上表皮层分为外上表皮层和内上表皮层,原表皮层分为外表皮和内表皮,表皮质内膜局部加厚形成螺旋丝。李怡萍等[30]运用电镜与亚甲基蓝标记法观察粘虫(*Leucania separata*)和棉大卷叶螟(*Sylepta derogata*)幼虫的肺结构与功能,表明肺存在于第8腹节的气管处,该处气管分支细短而丰富,形成气管簇;血流方向由前向侧后方,经第8腹节和臀腔,最后流回心脏;第8腹节气管簇的管壁比其它各节显薄,管壁内膜具有更多适合运动的细管,有利于气体的通透。Li等[61]通过电镜和光镜观察麦红吸浆虫(*Sitodiplosis mosellana*)幼虫丝腺的超微结构,发现滞育和非滞育幼虫的丝腺均由156个呈念珠状的细胞组成,细胞内含有发达的细胞器,包括内质网、高尔基体、线粒体和脂滴;非滞育幼虫的细胞器比滞育幼虫更发达,此形态特征可用于区分幼虫的滞育状态。

中肠是昆虫消化道的重要组成部分,马氏管是昆虫重要的排泄与渗透调节器官,刘璐[62]于2018年对长翅目(Mecoptera)蝎蛉科(Panorpidae)和蚊蝎蛉科(Bittacidae)的中肠与马氏管做了电镜观察,结果表明:这2个科幼虫中肠从外到内依次由肌肉层、基膜、上皮组织和管腔组成,上皮细胞基部细胞膜内折或与基膜密切相连;中肠表面纵肌在河南新蝎蛉(*Neopanorpa longiprocessa*)中排列稀疏,但是在扁蚊蝎蛉(*Bittacus planus*)中排列紧密。蝎蛉科和蚊蝎蛉科马氏管均有6根,由基膜、上皮组织和中央管腔组成;上皮细胞的基部细胞膜深度内折并产生膜迷路,上皮组织由较大的主细胞和较小的的星状细胞组成,缠绕蚊蝎蛉(*Terrobittacus implicatus*)主细胞富含球晶体,微绒毛端部膨大且含有线粒体,而南五台单角蝎蛉(*Cerapanorpa nanwutaina*)主细胞不含球晶体,微绒毛纤细不含线粒体。

Nunez-Pascual等[63]利用共聚焦和透射电子显微镜观察革翅目(Dermaptera)的*Forficula auricularia*和*Euborellia annulipes*特异性多营养化卵巢的形态发生。Nurcan等[64]使用光学显微镜和扫描电子显微镜对*I. speciosus*的雄性生殖系统解剖和组织学进行了研究,结果显示,*I. speciosus*的雄性内生殖系统由1对睾丸(每个睾丸都有1对单独的睾丸叶)、2对输精小管、1对输精管和1个射精管组成。每个睾丸叶大约含有65个睾丸卵泡,睾丸叶均通过输精小管与输精管相连。输精管腔内充满大量成熟的精子,输精小管上皮细胞呈圆柱形,输精管上皮细胞则呈立方形。输精管通过射精管通向阳茎,射精管由脊状内膜层、单层上皮细胞和肌肉层构成。

2.8 昆虫超微结构特征的分类学价值

1996年,齐宝瑛等[31]对网蝽科18种成虫及2种若虫进行电镜观察,根据体表感觉结构(小瘤突和感觉窝)的主要特征将所观察的11个属大致划分为6个类群,证实体表感觉结构的差异性在属水平上具有分类学意义,在属的鉴别上是一类可靠而适用的新型特征依据,对属内某些种的区分具有一定参考价值。彭凌飞等[32]于2010年将扫描电镜技术应用于中国宽额蛾蜡蝉属的分类研究,认为尽管新种三色宽额蛾蜡蝉(*Bythopsyrna trichrousa* sp. nov.)与*B. circulata*的外形很近似,但其雌雄外生殖器有明显区别,电镜照片显示,新种的触角感觉器只分布在第2节,且围绕四周分布;雌性肛节和第3产卵瓣上分布有蜡腺,这尽管与蛾蜡蝉一些种类相类似,但是形状和排列方式差异较大;据观察,蛾蜡蝉科有些种类的肛节没有蜡腺。2011年,李晓强[33]运用扫描电镜技术比较了10种蟋蟀的发声器和前翅表面的微观结构,并且利用每种蟋蟀的声齿间距、声齿和声锉的长度进行聚类分析,结果表明:发声器的声锉部分在种间的差异性明显,可作为分类的主要特征,刮器部分仅在科间存在一定差异,对分类单元的确立起到辅助作用;前翅表面的微毛结构在科间存在较大差异,种间无明显差异,翅背面结构在科、属间存在较大差异,种间无明显差异,二者可作为蟋蟀分类的辅助手段;采用电镜技术对吉林省蟋蟀总科部分种类微观结构的研究结果与形态学分类结果相吻合,说明其进化的平行性,同时也证明扫描电镜技术可以鉴定出形态学难以区分的近缘种,弥补形态学方法的不足。

鳞翅目卵壳的结构对分类学研究具有重要意义,Xu等[65]首次使用扫描电子显微镜描述*Zinaspa youngi*卵的表面超微结构,认为具有高分辨率和三维清晰度的超微结构特征在分类应用上非常有

价值。Su等[66]用光学显微镜和透射电镜观察了条沙叶蝉(*Psammettix striatus*)和横线叶蝉(*Exitianus nanus*)成熟精子的超微结构,虽然与其他亚科的精子相比存在7个相似之处,但是精子长度、顶体突起、精子核、线粒体衍生体等在亚科之间具有明显差异,这些差异在叶蝉亚科分类和系统发育研究中具重要意义。Symonds等[67]首次对澳大利亚南部针叶树(*Callitris*)属中的直翅目昆虫进行系统调查和分类,并对其中的代表物种进行扫描电子显微结构观察和描述。

综上所述,有研究者认为体表感觉结构(小瘤突和感觉窝)的差异具备分类学意义,有的认为雄性外生殖器超微结构的差异可作为分类鉴定依据,还有人认为声锉与声齿超微结构的不同具有分类学意义,甚至有人主张鳞翅目的卵壳与叶蝉成熟精子的超微结构可作为分类依据。超微结构特征能否在昆虫分类上发挥更大作用,关键在于发现同属不同种之间超微结构的显著差异,甚至种下不同亚种之间的显著差异,因为传统的形态分类法可以轻易解决昆虫在属及以上分类单元(如纲、目、科)的区分问题。

2.9　昆虫病理组织的超微结构

2013年,Marzban等[34]采用透射电镜和扫描电镜观察棉铃虫(*Helicoverpa armigera*)感染细胞质多角体病毒(HaCPV)后中肠细胞的病理学变化。结果表明,宿主幼虫感染1~2 d后,在中肠柱状细胞中观察到HaCPV多面体包涵体(PIB),其直径为0.5~3.5 μm,病毒颗粒直径约46 nm。一些感染的柱状细胞在3 d后破裂,将PIB释放到肠腔中;感染5~6 d后,杯状细胞中发现PIB。2016年,Mohammadyani等[35]使用扫描电镜记录球孢白僵菌(*Beauveria bassiana*)和绿僵菌(*Metarhizium anisopliae*)在长角甲虫(*Osphranteria coerulescens*)幼虫上引起的病理变化过程,认为长角甲虫对2种真菌都敏感,但球孢白僵菌的致死率显著高于绿僵菌。2017年,Gao等[68]用光学显微镜、扫描电子显微镜和透射电子显微镜观察受蜡蚧轮枝菌(*Lecanicillium lecanii*)菌株3.4505侵染的白蜡绵粉蚧(*Phenacoccus fraxinus*)2龄若虫的组织病理学变化。结果显示,接种后24 h,3.4505菌株的分生孢子粘附在虫体表面的节间皱褶上。随后分生孢子萌发,产生芽管、附着胞和延伸的菌丝,以附着胞形式或直接通过菌丝穿透角质层;48 h后,体壁、组织和器官,包括角质层、气管、脂肪体、肌肉、马氏管和神经节等被菌丝分枝破坏。内质网肥大并形成明显的指纹结块,血细胞中的线粒体肿胀变形。最后菌丝完全占据整个血腔;幼虫身体包裹于白色菌丝中,菌丝向外延伸。2023年,She等[69]从罹患软腐病的幼虫体内分离出病原体GX6,经鉴定为硫胺素类芽孢杆菌(*Paenibacillus thiaminolyticus*),用GX6孢子处理幼虫时,未观察到对其生长的显著影响,当把GX6营养细胞接种到培养基中时,6 d龄光亮扁角水虻幼虫的死亡率增加到29.33%±2.05%,透射电子显微镜观察表明,GX6破坏了围食期基质和肠道微绒毛,损伤了幼虫肠道的上皮细胞。

在已有的报道中,关于昆虫因真菌与病毒感染导致的病变组织超微结构观察较多,未来应加强对细菌性与线虫性病害引起的昆虫病理组织超微结构的研究,以及寄生性昆虫对宿主昆虫组织损伤的超微观察,以期为害虫生物防治研究工作的深入开展奠定基础。

3　电子显微技术在昆虫学研究中存在的不足

通过对已有文献的综述,发现尽管电子显微技术在昆虫研究中的应用越来越广泛,但目前仍存在以下问题:(1)大多数关于昆虫超微结构的研究与昆虫生理及生活习性的研究未能协同进行。生命体的组织与器官结构服务、甚至决定其生理机能与生活习性,仅明确超微结构的空间状态、数量与分布,但不清楚此种结构的生理功能或对生活习性的影响,显然不够完备。在以后的研究中,可以把昆虫超微结构观察与其行为学、生理学等研究结合起来,实现跨学科交叉探究,以便从昆虫生理功能上理解其超微结构的意义与价值。(2)对昆虫超微结构编码基因的探索有限,将超微结构的研究与昆虫分子学研究结合展开的报道较少。生物体的构造与结构也是由其特定基因编码的,昆虫亦不例外,由电子显微镜观察到的昆虫超微结构仅是其基因的表现型而已。可以利用昆虫基因组注释研究的成果,在明确研究对象特定部位编码基因的基础上,采用基因敲除法逐一排除非目标基因,以确定编码基因。(3)目前的电子显微学技术在昆虫研究上尚存在成本高、显微切片制作时易破坏原有组织结构、不能直接扫描活体昆

虫等弊端。该问题的解决方案一是提高观察仪器的共享水平,在行业内开放共用,通过业务量的提升降低使用成本;二是不断开发电子显微切片所需的新型廉价材料;三是创新切片制作工艺与技术,使新技术与新工艺既可降低制片成本,也能最大限度地保护昆虫组织结构的完整性;四是研发无需切片,通过电子束直接照射待查部位,即可成像的新型电镜技术,以实现活体昆虫的电镜观察。(4)对昆虫超微结构图片的处理分析大多要依赖人工完成,效率低、准确性不高。可对已有昆虫超微结构电镜图片进行整理,出版昆虫超微结构高清图集,或者开发分析软件,供科研人员参考使用,提高解析昆虫电镜图片的效率与准确性。

4 展望

基于以上对电子显微技术原理与应用的介绍,及其在昆虫学研究中不足之处分析,建议在今后加强如下工作:(1)在昆虫触角感器的电镜观测中,结合生物电化学的研究方法,通过探究不同感器的电化学信号变化规律来明确其生理机能。(2)对昆虫发声器超微结构的研究应辅以声学与生物力学的测定技术,探明不同超微结构与发声器官振幅及频率的关系,为人工发声器的研发奠定基础。(3)在昆虫外生殖器超微结构的研究上,结合昆虫求偶行为进行深入探究。(4)加强电子显微技术在昆虫消化系统超微结构观察上的应用,结合酶学、放射性示踪等技术研究昆虫消化系统的功能。(5)将冷冻电子显微技术应用到昆虫学研究中,对参与昆虫生理生化反应的蛋白酶进行解构分析。(6)总结具有分类特征的昆虫超微结构研究结果,为分类工作提供借鉴;同时,尝试研发便携式超微结构扫描仪器,方便野外研究工作的开展。(7)不应局限于电子显微技术,可探索将CT扫描成像技术和核磁共振成像技术应用于昆虫学研究,使切片观察过渡到整体标本观察或活体昆虫观察,并比较这2种研究方法与电镜观察结果的异同,有望获得新发现。(8)条件许可时,可利用扫描隧道显微技术和原子力显微技术,在原子精度(0.1 nm)对昆虫超微结构进行研究,尤其对微米级别的感器作组织构成解析(目前的研究结果主要为感器形状、分布等的描述)。(9)研究人工智能技术在昆虫超微结构照片分析中的应用问题,以提高效率与准确度。

参 考 文 献

[1]Ihara S, Yoshinaga M, Miyazaki H, et al. In situ electron tomography for the thermally activated solid reaction of anaerobic nanoparticles[J]. Nanoscale, 2023, 15(23): 10133-10140.

[2]Wang H Y, Liu L L, Wang J X, et al. The development of iDPC-STEM and its application in electron beam sensitive materials[J].Molecules,2022,27(12):3829.

[3]Liv N, Fermie J, Brink C B M, et al. Functional characterization of endo-lysosomal compartments by correlative live-cell and volume electron microscopy[J]. Methods in Cell Biology,2023,177:301-326.

[4]Struckman H L, Moise N, Vanslembrouck B, et al. Indirect correlative light and electron microscopy (iCLEM): A novel pipeline for multiscale quantification of structure from molecules to organs[J]. Microscopy and Microanalysis, 2024, 30(2): 318-333.

[5]Yuan J, Yang L, Yu P, et al.Comparison and development of scanning electron microscope techniques for delicate plant tissues [J]. Plant Science,2024,340:111963.

[6]Ali S, Zafar M, Ahmad M, et al. Palyno-taxonomic approach through light and scanning electron microscopy for the identification of herbaceous Asteraceae species from Sikaram Mountain Pak-Afghan border[J]. Microscopy Research and Technique, 2023, 86(10):1274-1297.

[7]Sigmund F, Berezin O, Beliakova S, et al.Genetically encoded barcodes for correlative volume electron microscopy[J]. Nature Biotechnology,2023,41(12):1734-1745.

[8]Jufaili S M A, Echreshavi S, Esmaeili H R. Scales surface topography: Comparative ultrastructural and decorative characteristics of a modern elasmoid fish scales in a cyprinid fish, *Garra shamal* (Teleostei: Cyprinidae) using digital optical light and scanning electron microscope imaging[J].Microscopy Research and Technique,2023, 86(1):97-114.

[9]袁向群,高 可,张国云,等.曲纹稻弄蝶触角感器超微结构观察[J].中国植保导刊,2013(12):18-20.
Yuan X Q, Gao K, Zhang G Y, et al. Ultrastructure of antennal sensilla of *Parnara ganga* Evans[J]. China Plant Protection, 2013(12):18-20.

[10]刘 玲,耿 硕,仵均祥,等.2种金龟甲触角感器超微结构的研究[J].西南农业学报,2015,28(6):2572-2576.
Liu L, Geng S H, Wu J X, et al. Study on ultrastructure of antennal sensilla of two scarabs[J].Southwest China Journal of Agricultural Sciences,2015,28(6):2572-2576.

[11]张国云,刘方方,高可,等.金龟甲成虫触角感器超微结构观察与比较[J].西北农业学报,2016,25(10):1561-1566.
Zhang G Y, Liu F F, Gao K, et al.Observation and comparison of the ultrastructure of antennal sensilla in scarab beetles (Coleoptera: Scarabaeidae)[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2016,25(10):1561-1566.

[12]陈庆霄,花保祯.大双角蝎蛉幼虫复眼超微结构及其在全变态类幼虫侧单眼演化中的意义[J].昆虫学报,2016,59(10):1133-1142.

Chen Q X, Hua B Z. Ultrastructure of larval compound eyes of *Dicerapanorpa magna* (Mecoptera: Panorpidae) and its implications for the evolution of stemmata of holometabolous larvae[J]. Acta Entomologica Sinica, 2016, 59(10): 1133-1142.

[13]王 茁. 玫瑰黄腹三节叶蜂幼虫侧单眼形态和超微结构[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2019.
Wang Z. Morphology and ultrastructure of the larval stemmata of *Arge pagana* (Hymenoptera: Argidae) [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2019.

[14]Mohr T, Meinertzhagen L A, Fischer S. Novel type of sub-retinal pigment shield in the miniaturized compound eye of *Trichogramma evanescens* [J]. The Journal of Comparative Neurology, 2020, 528(2): 167-174.

[15]刘志萍, 李燕飞, 王进军. 三种隐翅虫下颚须和下唇须感器超微结构的比较研究(鞘翅目:隐翅虫总科)[J]. 昆虫分类学报, 2008, 30(1): 25-30.
Liu Z P, Li Y F, Wang J J. Comparision of sensilla on the maxillary and labial palpus of three species of Staphylinidae (Coleoptera: Staphylinoidea) [J]. Entomotaxonomia, 2008, 30(1): 25-30.

[16]黄 晶, 马继文, 刘歆然, 等. 中华蚊蝎蛉成虫口器感器的超微结构[J]. 昆虫学报, 2011, 54(1): 110-116.
Huang J, Ma J W, Liu X R, et al. Ultrastructure of the mouthpart sensilla in adult *Bittacus sinensis* Walker (Mecoptera: Bittacidae)[J]. Acta Entomologica Sinica, 2011, 54(1): 110-116.

[17]宋月芹, 董钧锋, 孙会忠. 双委夜蛾幼虫触角、口器感器的类型与分布[J]. 植物保护, 2018, 44(2): 122-128.
Song Y Q, Dong J F, Sun H Z. Types and distribution of sensilla on larval antennae and mouthparts of *Athetis dissimilis* [J]. Plant Protection, 2018, 44(2): 122-128.

[18]谢令德, 郑哲民. 音蟋属三种蟋蟀发声器特征的比较[J]. 武汉工业学院学报, 2002(4): 99-101.
Xie L D, Zheng Z M. Stridulatory files of three species of the genus *Phonarellus* [J]. Journal of Wuhan Polytechnic University, 2002(4): 99-101.

[19]李 玲, 迟德富, 李 燕, 等. 3种天牛科昆虫摩擦发音器的超微结构及摩擦发音机制分析[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2013, 37(1): 71-77.
Li L, Chi D F, Li Y, et al. Stridulatory organs ultrastructure of three longhorned beetles and their stridulation mechanism [J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Science Edition), 2013, 37(1): 71-77.

[20]Chen Q, Zhang X, Tan H W, et al. Macroptery might produce more attractive calling songs: Acoustic differences between two wing morphologies of *Metrioptera bicolor* Philippi (Orthoptera: Tettigoniidae)[J]. Transactions of the American Entomological Society, 2021, 147(4): 855-865.

[21]Teves S C, Goncalves T C M, De Freitas S P C, et al. External female genitalia of *Triatoma jatai*, *Triatoma costalimai* and *Triatoma williami* (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae)[J]. Parasit Vectors, 2020, 13(1): 538.

[22]洪健, 叶恭银, 邢连喜, 等. 虎凤蝶属雄性外生殖器超微结构的比较(鳞翅目:凤蝶科)[J]. 昆虫学报, 1999, 42(4): 381-386.
Hong J, Ye G Y, Xing L X, et al. Ultrastructural comparisons among male external genitalias of four *Luehdorfia* species (Lepidoptera: Papilionidae) [J]. Acta Entomologica Sinica, 1999, 42(4): 381-386.

[23]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, 1995, 19(4): 14-20.
Ji B Z, Qian F J. A study on the reproductive system of *Batocera horsfieldi* (Hope) [J]. Journal of Nanjing Forestry University, 1995, 19(4): 14-20.

[24]Liébanas G, Sáez Á, Luna Á, et al. The morphology of *Colpocephalum pectinatum* (Phthiraptera: Amblycera: Menoponidae) under scanning electron microscopy [J]. Arthropod Structure & Development, 2021, 64: 101085.

[25]Orengo-Green J O, Quinto J, Ricarte A, et al. Combined stereomicroscope and SEM disentangle the fine morphology of the undescribed larva and puparium of the hoverfly *Milesia crabroniformis* (Fabricius, 1775) (Diptera: Syrphidae) [J]. Micron, 2023, 165: 103397.

[26]Llorente-Bousquets J, Nieves-Uribe S, Flores-Gallardo A. Exochorion in the tribe Nymphalini (Lepidoptera: Nymphalidae): the genus *Hypanartia* Hbner, [1821] and comparison with related genera[J]. Zootaxa, 2023, 5330(2): 151-200.

[27]Bello E, Alleyne M. Brochosome size variation and its influence on leafhopper (Hemiptera: Cicadellidae) wing wettability[J]. Journal of Insect Science, 2024, 24(1): 6.

[28]Zelinger E, Brumfeld V, Rechav K, et al. Three-dimensional correlative microscopy of the *Drosophila* female reproductive tract reveals modes of communication in seminal receptacle sperm storage[J]. Communications Biology, 2024, 7(1): 155.

[29]李怡萍, 刘惠霞, 袁向群. 昆虫气管系统的超微结构[J]. 西北农业学报, 2002, 11(1): 57-60.
Li Y P, Liu H X, Yuan X Q. The ultrastructure of the tracheal system in insect [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2002, 11(1): 57-60.

[30]李怡萍, 刘惠霞, 袁 锋, 等. 粘虫和棉大卷叶螟幼虫体内肺结构的存在与功能验证[J]. 昆虫学报, 2009, 52(12): 1298-1306.
Li Y P, Liu H X, Yuan F, et al. Existence of lungs in caterpillars of *Leucania separata* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Sylepta derogata* (Lepidoptera: Pyralidae) and confirmation of their functions[J]. Acta Entomologica Sinica, 2009, 52(12): 1298-1306.

[31]齐宝瑛, 杨晓英, 马旭东, 等. 网蝽科十一属昆虫体表感觉结构的电镜观察[J]. 昆虫学报, 1996, 39(1): 21-27.
Qi B Y, Yang X Y, Ma X D, et al. An observation on sensory structures of eleven genera in Tingidae[J]. Acta Entomologica Sinica, 1996, 39(1): 21-27.

[32]彭凌飞, 张雅林, 王应伦. 中国宽额蛾蜡蝉属分类研究(半翅目:蛾蜡蝉科)[J]. 昆虫分类学报, 2010, 32(3): 171-178.
Peng L F, Zhang Y L, Wang Y L. A taxonomic study on the genus *Bythopsyrna* Melichar (Hemiptera: Flatidae) from China [J]. Entomotaxonomia, 2010, 32(3): 171-178.

[33]李晓强.吉林省蟋蟀总科昆虫分类学研究[D].长春:东北师范大学,2011.
Li X Q.Study taxonomy on the Grylloidea Jilin Province[D]. Changchun:Northeast Normal University,2011.

[34]Marzban R, He Q,Zhang Q W,et al.Histopathology of cotton bollworm midgut infected with *Helicoverpa armigera* cytoplasmic polyhedrosis virus [J]. Brazilian Journal of Microbiology,2013,44(4):1231-1236.

[35]Mohammadyani M, Karimi J, Taheri P, et al. Entomopathogenic fungi as promising biocontrol agents for the rosaceous longhorn beetle, *Osphranteria coerulescens* [J]. BioControl,2016,61(5):579-590.

[36]付洪兰.实用电子显微镜技术[M].北京:高等教育出版社,2004:1-204.
Fu H L.Practical electron microscopy technology[M].Beijing: Higher Education Press,2004:1-204.

[37]刘冰川,曲利娟,刘庆宏.透射电子显微镜成像方式综述[J].医疗设备信息,2007,22(9):43-46.
Liu B C, Qu L J, Liu Q H.Overview of imaging devices for transmission electronic microscope[J].China Medical Devices, 2007,22(9):43-46.

[38]Taylor K A , Glaeser R M. Electron diffraction of frozen, hydrated protein crystals[J].Science,1974,186(4168):1036-1037.

[39]杨 显,胡建军,郭 宁,等.扫描电子显微镜成像模式在金属材料研究中的选用[J].重庆理工大学学报(自然科学),2018,32(7): 132-137.
Yang X, Hu J J, Guo N, et al. Imaging mode selection of scanning electron microscope for metal materials research[J]. Journal of Chongqing University of Technology (Natural Science) ,2018,32(7): 132-137.

[40]第二届生物物理学名词审定委员会.生物物理学名词[M].第二版.北京:科学出版社,2018:1-322.
The Second Term of the Biophysics Terms Vetting Committee. Chinese Terms in Biophysics[M].Second Edition. Beijing: Science Press,2018:1-322.

[41]Li Y P, Liu F F, Du X, et al. Ultrastructure of antennal sensilla of three fruit borers (Lepidoptera: Crambidae or Tortricidae) [J]. PLoS ONE,2018,13(10):1-10.

[42]Li Y P, Du X, Liu F F, et al.Ultrastructure of the sensilla on antennae and mouthparts of larval and adult *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) [J]. Journal of Integrative Agriculture, 2018,17(6):1409-1420.

[43]Zhang J,Fu L,Cheng B,et al. Morphological characteristics of antennal sensilla in *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Erebidae) [J]. Transactions of the American Entomological Society,2019,145(3):421-434.

[44]Zhang Y J, Chen D Y, Chao X T, et al. Morphological characterization and distribution of antennal sensilla of *Diaphania angustalis* Snellen (Lepidoptera: Crambidae) [J]. Microscopy Research and Technique, 2019, 82 (10) : 1632-1641.

[45]Rani A T, Shashank P R, Meshram N M,et al.Morphological characterization of antennal sensilla of *Earias vittella* (Fabricius) (Lepidoptera: Nolidae) [J]. Micron, 2021, 140: 102957.

[46]Thammaiah R A , Pathour S, Meshram N, et al. Morphological characterization and distribution of antennal sensilla of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) using scanning electron microscopy[J].Microscopy Research and Technique, 2022,85(4):1371-1391.

[47]Ge Y, Smith Q M, Chen W L, et al. Morphological characterization and sexual dimorphism of the antennal sensilla in *Bactericera gobica* Loginova (Hemiptera: Psyllidae) - a scanning and transmission electron microscopic study[J].PeerJ, 2022,10:e12888.

[48]Guo F Z, Ning S Y, Feng J N, et al. Ultrastructure and morphology of the compound eyes of the predatory bug *Montandoniola moraguesi* (Insecta:Hemiptera:Anthocoridae) [J]. Arthropod Structure and Development, 2021, 528 (2) : 167-174.

[49]Zhang Y T,Dietrich C H,Duan Y N.Structure and sensilla of the mouthparts of *Alobaldia tobae* , *Maiestas dorsalis* and *Stirellus indrus* (Hemiptera:Cicadellidae:Deltocephalinae)[J]. Zoomorphology,2020,139(2):1-10.

[50]胡桂林,张传敏,路纪琪.宽胫夜蛾成虫触角和下唇须感器的超微形态[J].环境昆虫学报,2022,44(3):756-767.
Hu G L, Zhang C M, Lu J Q. Ultramorphology of adult antennal and labial palp sensilla of *Protoschinia scutosa* (Lepidoptera: Noctuidae: Heliothinae) [J]. Journal of Environmental Entomology,2022,44(3):756-767.

[51]Yi M F,Sun M,Hou L Z,et al.Ultrastructure of the proboscis and antennal sensilla in the family Hesperiidae (Insecta: Lepidoptera) [J/OL]. Zoomorphology, 2024. [2024-08-25]. https://doi.org/10.1007/s00435-024-00666-3.

[52]Yang S, Liu F, Zhao Y F, et al. Microstructure and defense function of the acoustic organ of *Papilio xuthus* (Lepidoptera: Papilionidae) pupae(in English)[J].Acta Entomologica Sinica, 2022,65(9):1196-1203.

[53]Wang Q K,Yang Y Z, Liu M Q,et al.Fine structure of *Delia platura* (Meigen) (Diptera: Anthomyiidae) revealed by scanning electron microscopy [J]. Microscopy Research and Technique,2014,77(8):619-630.

[54]郑溢华,王 鑫,廖永林,等.霍氏啮小蜂外生殖器及其感器的超微结构[J].环境昆虫学报,2016,38(5):1011-1017.
Zheng Y H, Wang X, Liao Y L, et al. Ultra-structure of the genitalia and genitalial sensilla of *Tetrastichus howardi* (Olliff) (Hymenoptera: Eulophidae) [J]. Journal of Environmental Entomology,2016,38(5):1011-1017.

[55]Ghany N M A E, Aziz S E A E, Faucheux M J. The ultrastructure of nymphal dermal pores and the genitalia of adult male of *Phenacoccus solenopsis* (Hemiptera: Pseudococcidae)[J].Scientific Reports,2024,14(1):1227.

[56]杨韩英,张振飞,张 扬, 等.黑肩绿盲蝽外生殖器及其感器的超微结构[J].环境昆虫学报,2021,43(3):768-774.
Yang H Y, Zhang Z F, Zhang Y, et al. Ultra-structure of the

genitalia and genitalial sensilla of *Cyrtorhinus lividipennis* Reuter (Himiptera: Miridae)[J]. Journal of Environmental Entomology,2021,43(3):768-774.

[57]张迎春,张 莹,郑哲民,等.4种昆虫鞘翅表面超微结构的比较[J].西北大学学报(自然科学版),2001,31(6):522-524.
Zhang Y C, Zhang Y, Zheng Z M, et al. A comparative study on elytral ultrastructures in beetles of four species[J].Journal of Northwest University(Natural Science Edition),2001,31(6):522-524.

[58]Alencar J, Gil-Santana H R, Ferreira De M C, et al. Ultrastructure and morphometry of the egg of *Coquillettidia albifera* (Prado) with illustrations of male genitalia (Diptera: Culicidae)[J]. Zootaxa, 2019,4565(1):1-13.

[59]Wang Z C, Peng L Y, Cheng X, et al. A *CYP380C10* gene is required for waterproofing and water retention in the insect integument[J].Journal of Insect Physiology,2022,138:104380.

[60]Manuela R, Gianandeea S, Sllvana P, et al. The armoured cuticle of the black soldier fly *Hermetia illucens*[J]. Scientific Reports,2023,13(1): 22101-22111.

[61]Li Y P, Wu J X, Cheng W N, et al.Comparison of silk glands of diapause and non-diapause larval *Sitodiplosis mosellana*[J]. Journal of Insect Science, 2012,114: 407-415.

[62]刘 璐.蝎蛉科与蚊蝎蛉科幼虫中肠和马氏管超微结构比较(长翅目)[D].杨凌:西北农林科技大学,2018.
Liu L. Comparative ultrastructure of the larval midgut and malpighian tubules of Panorpidae and Bittacidae (Mecoptera)[D].Yangling:Northwest A&F University,2018.

[63]Nunez-Pascual V, Calleja F, Pardo R V, et al.The ring-legged earwig *Euborellia annulipes* as a new model for oogenesis and development studies in insects[J]. Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution, 2023,340(1):18-33.

[64]Nurcan Ö K, Selami C, Üzeyir C. Anatomical and histological structures of male reproductive system in long-horned beetle *Isotomus speciosus* (Schneider, 1787) (Coleoptera: Cerambycidae): Light and scanning electron microscopic study[J]. Microscopy and Microanalysis,2023,29(3):1258-1266.

[65]Xu H M, Wang M. Surface ultrastructure of the egg chorion of *Zinaspa youngi* Hsu & Johnson (Lepidoptera: Lycaenidae)[J]. Lepidoptera Science,2013,64(1):27-29.

[66]Su M, Dietrich C H, Zhang Y L, et al. Ultrastructure of the spermatozoa of *Psammotettix striatus* (Linnaeus) and *Exitianus nanus* (Distant) (Hemiptera: Auchenorrhyncha: Cicadellidae: Deltocephalinae[J]. Arthropod Structure and Development,2014,43(6): 559-570.

[67]Symonds C L, Cassis G. Systematics and analysis of the radiation of Orthotylini plant bugs associated with callitroid conifers in Australia: Description of five new genera and 32 new species (Heteroptera: Miridae: Orthotylinae)[J]. Bulletin of the American Museum of Natural History,2018,422:1-226.

[68]Gao Y, Xie Y P, Xiong Q, et al. Ultrastructural exploration on the histopathological change in *Phenacoccus fraxinus* infected with *Lecanicillium lecanii*[J]. PLoS ONE, 2017, 10(1): e0117428.

[69]She W J, Xiao Q, Meng Y, et al. Isolated and identified pathogenic bacteria from black soldier fly larvae with "soft rot" reared in mass production facilities and its incidence characteristics[J].Waste Management,2023,163:85-95.

Application and advances of electron microscopy techniques in insect research

Guo Zikun[1], Zhang Guoyun[2], Li Yiping[1], Yuan Xiangqun[1]

(*1.College of Plant Protection, Northwest A&F University, Yangling 712100, China; 2.State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas, Northwest A&F University, Yangling 712100, China*)

Abstract: This review provided a comprehensive overview of the structure, classification, and applications of electron microscopy (EM) techniques. It introduced the working principles of key EM methods, including transmission electron microscopy (TEM), scanning electron microscopy (SEM), reflection electron microscopy (REM), and emission electron microscopy (EEM). Building on this foundation, the review further explored the applications and advancements of EM techniques in the study of insect antennae, simple and compound eyes, mouthparts, sound-producing organs, external genitalia, surface characteristics at different developmental stages, internal organs, as well as their taxonomy and pathology. Based on a comprehensive analysis of existing literature, several suggestions were proposed: under favorable conditions, future entomological research should expand its scope to incorporate cryo-electron microscopy; develop methods for observing live insects using EM to enhance the practicality of research; and while focusing on ultrastructural studies, integrate techniques such as electrochemistry, enzymology, and radioactive tracing to elucidate the relationship between the ultrastructure and physiological functions of various insect sensory organs, sound-producing structures, and genitalia. This approach provided valuable insights for the integrated management of harmful insects and the development and utilization of beneficial insect resources.

Keywords: Electron microscopy, Techniques, Entomology, Application and advances

(编辑:马荣博)