

淡色库蚊生殖滞育的神经内分泌调节

鲁加龙 张恩英 王仁赉

(上海第二医科大学人体寄生虫学教研室, 上海 200025)

摘要 刚羽化的淡色库蚊 (*Culex pipiens pallens*) 去首后, 其第 I 卵泡停滞在 N 期, 不能进一步发育。5 天以上日龄滞育蚊去首后, 第 I 卵泡约在去首后 24 小时即从 N 期开始发育。组织切片发现, 滞育蚊咽侧体 (CA) 体积小, 形态瘦长, 略呈圆锥形, 胞核着色深, 排列紧密, 胞质少, 似处于失活状态。滞育蚊卵巢转种到发育蚊体内, 其卵泡可以发育, 而转种到滞育蚊体内则不能发育。类保幼激素 (JHA, ZR515) 及从发育蚊血淋巴液中提取的粗制保幼激素都能使滞育蚊的卵泡发育。

关键词 淡色库蚊 生殖滞育 神经内分泌 保幼激素 咽侧体

蚊虫生殖滞育的诱因及生理表现已有数篇报道。关于蚊虫生殖滞育的神经内分泌调节机制迄今国内外仅有个别报告。Spielman (1974) 报道保幼激素类似物 (JHA) 可使滞育的尖音库蚊 (*Culex pipiens*) 滞育率大幅度降低; ZR515 (JHA) 可使滞育的费氏按蚊 (*Anopheles freeborni*) 吸血率增加, 并能产出成熟的卵 (Case 等, 1977)。王仁赉等 (1984) 通过蚊虫去首抑制咽侧体分泌保幼激素的方法与滞育蚊对照, 从而推论卵泡滞育与缺乏保幼激素有关。本文以淡色库蚊 (*Culex pipiens pallens*) 为实验材料, 对生殖滞育的神经内分泌调节作了进一步研究。

材料与方 法

昆虫饲养 当年采集上海市郊的淡色库蚊饲养繁殖。在日夜温差 5°C (18—23°C) 控温室内, 从第 5 龄幼虫开始分别用长光照 (L:D = 16:8) 及短光照 (L:D = 8:16) 处理, 羽化后可获得长光照处理的发育蚊及短光照诱导的生殖滞育蚊, 后者主要表现为卵巢不发育, 第 I 卵泡停滞在 N 期。

方法

一、滞育蚊脑系对卵巢发育调节的观察: 在解剖镜下快速去除不同日龄的发育蚊、滞育蚊的头部, 置去首蚊于适温高湿环境下, 间隔一定时间解剖观察卵泡变化。每组解剖 25 只蚊虫, 重复 2—3 次。卵泡平均长度取自 25 只蚊中每只蚊虫最大卵泡长度的平均值。

二、滞育蚊咽侧体的观察: 选择羽化后 5 天左右的滞育蚊及羽化后不同日龄的发育蚊麻醉至死, 固定, 常规组织切片, HE 染色, 观察滞育蚊和发育蚊的咽侧体。

三、滞育蚊体内缺乏保幼激素的观察: 在解剖镜下从滞育成蚊中取出一对卵巢, 置于昆虫生理盐水中。然后在轻度麻醉的发育蚊 (羽化后 36—48 小时) 和滞育蚊的腹部第

7、8 腹节间挑开长约 0.5mm 开口,再把置于生理盐水中的卵巢放进去,可用石蜡封口,也可不封口,置高湿度环境中喂 5—8% 糖水,经 72 小时麻醉至死,从原创口找出被转种的卵巢并观察。另外,用异辛烷从两种蚊虫血淋巴液中提取保幼激素(Rembold 和 Lackner, 1985),用氮气移去异辛烷相,再用 Clarke 昆虫生理盐水稀释后注射到滞育蚊体内,观察其对滞育蚊卵巢的作用。同时用生理盐水稀释 ZR515,注射一定剂量到滞育蚊体内,观察其对卵巢的作用。

结 果

一、滞育蚊脑系对卵巢发育调节的观察

长光照处理蚊和短光照诱导蚊,羽化后立即去首,其第 I 卵泡均停滞在 N 期不再发育(图1)。而 5 天左右日龄滞育蚊去首后,其第 I 卵泡在去首后一定时间就可以从 N 期进一步发育长大(图 2)。故滞育蚊中脑系对卵巢发育起抑制作用。

二、滞育蚊咽侧体的观察

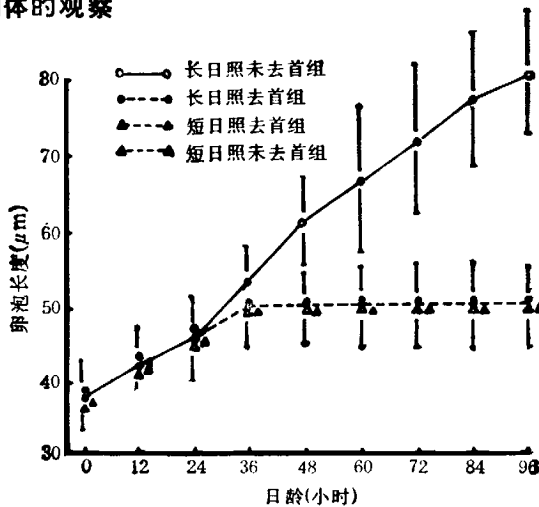


图 1 淡色库蚊脑系与卵泡滞育的关系

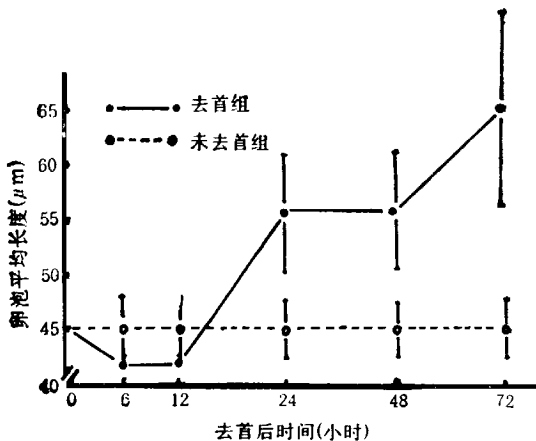


图 2 5 日龄滞育淡色库蚊去首与卵泡发育的关系

组织切片发现, 24、48 小时日龄发育蚊的咽侧体体积大, 形态饱满呈椭圆形, 胞核排列疏松, 胞质丰富, 呈腺体活性状态(图 3)。滞育蚊咽侧体与上述相比较, 则体积小, 形态瘦长略呈圆锥形, 胞核排列紧密, 胞质少, 似处于失活状态(图 4)。

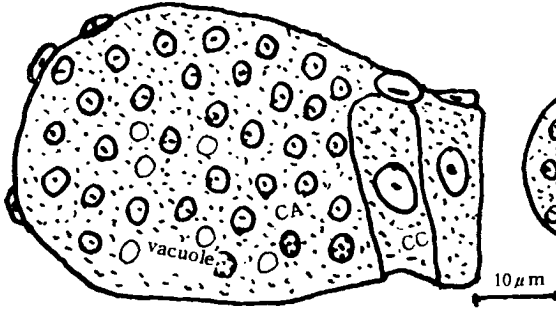


图 3 24 小时日龄发育蚊咽侧体模拟图

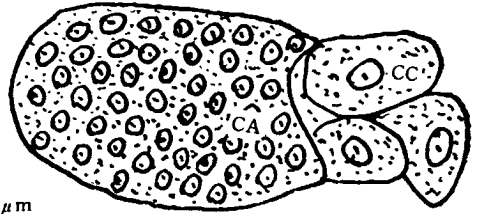


图 4 滞育蚊咽侧体模拟图

CA: 咽侧体 CC: 心侧体 vacuole: 空泡

表 1 淡色库蚊卵巢转种实验 (72 小时)*

方 法	成活蚊数(只)	找到被转种卵巢数(只)	卵泡平均长度(μm)
滞育蚊→发育蚊	22	14	$58.00 \pm 12.41 (P < 0.01)$
滞育蚊→滞育蚊	18	15	$41.53 \pm 6.75 (P > 0.05)$
未处理的滞育蚊	25	25	45.92 ± 7.03
接受转种的发育蚊	22	22	107.86 ± 15.82

* 数据均经 t 检验处理

表 2 含保幼激素类因子提取物注射实验 (72 小时)*

方 法	卵泡平均长度 (μm)	观察蚊数(只)
2 只发育蚊→1 只滞育蚊	$56.00 \pm 6.70 (P < 0.01)$	25
2 只滞育蚊→1 只滞育蚊	$47.32 \pm 4.64 (P > 0.05)$	25
1 只发育蚊→1 只滞育蚊	$47.60 \pm 6.06 (P > 0.05)$	25
等量生理盐水→1 只滞育蚊	$47.88 \pm 4.82 (P > 0.05)$	25
原材料未处理滞育蚊	45.92 ± 7.03	25

* 数据均经 t 检验处理

三、滞育蚊体内缺乏保幼激素的观察

表 1 可见, 滞育蚊卵巢转种到发育蚊体内, 其第 I 卵泡可以发育, 而转种到滞育蚊体内的卵泡却不能发育。说明滞育蚊卵泡停滞发育是由于其体内缺乏某种刺激因子, 该因子在发育蚊体内存在着。

用异辛烷处理发育蚊血淋巴液后得到含有保幼激素类因子提取物, 可以使滞育蚊的卵泡发育, 而经同样处理的滞育蚊血淋巴液却无此作用(表 2)。

另外, 一定剂量的保幼激素类似物 (ZR515) 也能使滞育蚊的卵泡发育(表 3), 因此

认为滞育蚊体内缺乏的因子是保幼激素类因子。

表 3 低剂量 ZRS15 对滞育蚊作用的观察 (48 小时)*

处 理	观察蚊数(只)	第 I 卵泡平均长度 (μm)
$7.5 \times 10^{-1} \mu\text{g}$	22	$60.13 \pm 13.26 (P < 0.01)$
$7.5 \times 10^{-4} \mu\text{g}$	25	$61.32 \pm 12.67 (P < 0.01)$
$7.5 \times 10^{-7} \mu\text{g}$	25	$49.28 \pm 12.28 (P > 0.05)$
等剂量双蒸水	25	$49.00 \pm 11.07 (P > 0.05)$
未处理滞育蚊	25	45.92 ± 7.03

* 数据均经 t 检验处理

讨 论

短光照诱导蚊虫生殖滞育的主要指标是卵巢滞育, 表现为第 I 卵泡停滞在 N 期而不能进一步发育 (Spielman 和 Wong, 1973; 王仁赉, 1979, 1984), 其原因可能与滞育蚊体内缺乏保幼激素有关。本文通过卵巢转种、保幼激素物提取与注射及类保幼激素注射实验证实了淡色库蚊血淋巴液中缺乏保幼激素类因子。咽侧体是昆虫合成、释放保幼激素的内分泌器官, 其体积变化与活性有关而呈周期性变化 (郭鄂等, 1979)。许多作者认为其体积增加, 则是有活性的, 反之则活性减弱或失活。在蚊虫中, 咽侧体的体积变化与其功能活动也是一致的, 功能活动强时, 其体积大, 胞质多, 尤以羽化后 24 小时发育蚊为明显 (Detinova, 1945; Larsen 和 Bodenstein, 1959)。一般认为滞育成虫咽侧体常小于生殖活动期的咽侧体 (Kono, 1980)。本文观察到滞育淡色库蚊咽侧是小的, 无活性, 处于被抑制的失活状态。因此, 滞育蚊体内缺乏保幼激素类因子可能是由于咽侧体被抑制, 不能合成、释放保幼激素所致。

昆虫脑通过神经和/或体液来调节咽侧体活性。在蚊科, 去首能抑制刚羽化蚊卵泡发育 (Gwadz 和 Spielman, 1973; Hagedorn, 1977; Masler 等, 1980; Clements, 1956; 王仁赉等, 1984), 抑制吸血蚊合成卵黄蛋白 (Borovsky, 1981; Gillett, 1956; Greenplate 等, 1985), 及抑制吸血蚊第 II 卵泡发育 (Feinsod 和 Spielman, 1980)。这些抑制作用都可以被保幼激素及其类似物解除, 其原因可能是去首后咽侧体失去脑系调节作用, 不能合成保幼激素而导致体内缺乏该激素所致。本文中去除刚羽化滞育蚊及发育蚊头出现相同情况, 第 I 卵泡均不能发育。而去除 5 日龄滞育蚊头, 则约在去首后 24 小时左右其卵泡即可发育。故滞育蚊中脑系对卵巢发育主要起抑制作用。如前所述, 这可能是滞育蚊中脑系抑制咽侧体活性, 使其不能合成保幼激素, 而出现脑系对卵巢的间接抑制作用。同时, 滞育蚊中脑系对咽侧体促进作用还是存在的, 因为解除脑系的抑制作用后咽侧体即能合成保幼激素, 但去除刚羽化蚊的头则无此现象。因此, 这种促进作用的信号是在蚊虫羽化后一定时间内释放的, 可能在羽化后 24 小时内释放的, 并且可能是突发性释放 (Hagedorn, 1977), 在滞育蚊体内能长期保存而不被代谢或降解, 当抑制作用一解除即能启动咽侧体合成保幼激素。

参 考 文 献

- 王仁贵 1979 光周期对淡色库蚊滞育越冬影响的观察。昆虫学报 22(3): 294—9。
- 王仁贵等 1984 淡色库蚊卵巢滞育指标及其内分泌控制滞育的观察。寄生虫学与寄生虫病杂志 2(4): 228—30。
- 郭鄂等编著 1979 昆虫的激素。科学出版社。
- Borovsky, D. 1981 In vivo stimulation of vitellogenesis in *Aedes aegypti* with juvenile hormone, juvenile hormone analogue (ZR515) and 20-hydroxyecdysone. *J. Insect Physiol.* 27: 371—8.
- Case, T. T. et al. 1977 Diapause termination in *Anopheles freeborni* with juvenile hormone mimics. *Ent. Exp. Appl.* 21: 155—62.
- Clements, A. N. 1956 Hormonal control of ovary development in mosquitoes. *J. Exp. Biol.* 33: 211—23.
- Detinova, T. S. 1945 On the influence of glands of internal secretion upon the ripening of the gonads and imaginal diapause in *Anopheles maculipennis*. *Zool. Zhur. Moscow* 24: 291—8.
- Feinsod, F. M. & A Spielman 1980 Independently regulated juvenile hormone activity and vitellogenesis in mosquitoes. *J. Insect Physiol.* 26: 829—32.
- Gillett, J. D. 1956 Initiation and promotion of ovarian development in the mosquito *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus). *Ann. Trop. Med. Parasit.* 50: 375—80.
- Greenplate, J. T. et al. 1985 The role of factors from the head in the regulation of egg development in the mosquitoes *Aedes aegypti*. *J. Insect Physiol.* 31(4): 323—9.
- Gwadz, R. W. & A. Spielman 1973 Corpus allatum control of ovarian development in *Aedes aegypti*. *J. Insect Physiol.* 19: 1441—8.
- Hagedorn, H. H. 1977 Postemergence growth of the ovarian follicles of *Aedes aegypti*. *J. Insect Physiol.* 23: 203—6.
- Kono, Y. 1980 Endocrine activities and photoperiodic sensitivity during pre-diapause period in the phytophagous lady beetle, *Epilachna vitticollis*. *Appl. Ent. Zool.* 15: 73—80.
- Larsen, J. R. & D. Bodenstein 1959 The humoral control of egg maturation in the mosquitoes. *J. Exptl. Zool.* 140: 343—81.
- Masler, E. P. et al. 1980 Endocrine regulation of ovarian development in the autogenous mosquitoes, *Aedes atropalpus*. *General and Comparative Endocrinology* 41: 250—9.
- Rembold, H. & B. Lackner 1985 Convenient method for the determination of picomole amounts of juvenile hormone. *J. Chromat.* 323: 355—61.
- Spielman, A. & J. A. Wong 1973 Environmental control ovarian diapause in *Culex pipiens*. *Ann. Ent. Soc. Amer.* 66(4): 905—7.
- Spielman, A. 1974 Effect of synthetic juvenile hormone on ovarian diapause of *Culex pipiens* mosquitoes. *J. Med. Ent.* 11(2): 223—5.

NEUROENDOCRINE REGULATION OF REPRODUCTIVE DIAPAUSE IN *CULEX PIPIENS PALLENS*

LU JIA-LONG ZHANG EN-YING WANG REN-LAI

(Department of Parasitology, Shanghai Second Medical University, Shanghai 200025)

The primary follicles cannot grow further, and stop at N stage when adults are decapitated soon after emergence in diapausing *Culex pipiens pallens*. The primary follicles begin to develop about 24 hours after being decapitated in the 5-day old diapausing adults. Thus the role played by neuroendocrine of the head in regulation of follicular development is conspicuous. The corpora allata (CA) of diapausing mosquitoes are characterized by their small size, little cytoplasm, no vacuole and being inactive, so there is no indication of juvenile hormone (JH) synthesis and secretion. The primary follicles of diapausing ovary can develop when they are transplanted into the abdomen of reproductive mosquitoes, but they fail to grow in diapausing mosquitoes. ZR 515 (JHA) and JH extracted from haemolymph of reproductive mosquitoes can trigger diapausing follicles to develop.

Key words *Culex pipiens pallens*——reproductive diapause——neuroendocrine——juvenile hormone——corpora allata