

海南省与云南省两地微小按蚊杂交试验*

石焕焕 田春林 何登贤

广西医科大学寄生虫学教研室 南宁 530021

提要 目的: 观察海南省与云南省两地微小按蚊之间是否存在种间差异。**方法:** 在两地牛房采集微小按蚊, 单雌驯养繁殖, 用强迫交配方法进行杂交试验, 观察 F1 代的可育性。制作杂种 F1 卵巢营养细胞多线染色体标本, 观察染色体各区域的联会情况。**结果:** 云南省微小按蚊 (Y) × 海南省微小按蚊 (H) 杂交组卵孵化率为 0, 卵内无胚胎形成。(H × Y) F1 各回交组中, 大多数卵孵化率显著低于亲本。(H × Y) F1 雌蚊卵巢营养细胞多线染色体 3R 的 29 区、36 区及 37 区, X 性染色体的 4 区和 6 区出现恒定不联会。**结论:** 海南省与云南省两地微小按蚊已出现明显生殖隔离, 系两个不同的亲缘种。

关键词 微小按蚊 杂交 多线染色体 亲缘蚊种

微小按蚊是西太区、东南亚地区和我国南方山区重要传疟媒介之一。80 年代前, 我国曾对不同地理分布的微小按蚊作过一些形态比较与同工酶分析等研究工作, 认识到它们之间存在差异。1988 年, Sucharit 等^[1]发现泰国微小按蚊是一复合体, 存在 A 及 C 两个姐妹种。我国南方山区地域辽阔, 各地的微小按蚊是否出现了种内的分化? 为了解决这一问题, 我们于 90 年代初开始进行微小按蚊种复合体的研究。1991 年, 叶奕英等^[2]进行云南与广西两地微小按蚊实验品系的杂交试验和卵巢营养细胞多线染色体的观察, 结果发现它们之间存在部分生殖隔离。1992 年至 1994 年, 我们对广西南部、北部和西部 3 地微小按蚊进行研究, 结果未发现有种复合体的存在^[3,4]。1994 年至今, 我们又对琼、桂及滇 3 省、自治区的微小按蚊进行了一系列的研究。

材料与方 法

蚊虫来源

1 海南微小按蚊 (简称 H) 1994 年 8 月采集自海南省儋州市八一农场。

2 云南微小按蚊 (简称 Y) 1995 年 7 月采集于云南省元江县甘庄乡大凹子村。在采集地的牛房捕获饱血雌蚊, 经形态鉴别后带回实验室单只饲养产卵, 孵出幼虫后按常规驯养, 建立单雌繁殖。

杂交试验

H (第 15 代) 和 Y (第 3 代) 单雌繁殖成蚊羽化后 12 h 内将雌雄分笼饲养。雌蚊吸血后用人工方法进行强迫交配。把交配后的雌蚊单只置于直径 2 cm 的玻璃指管内产卵。观察产卵率、平均产卵量和孵化率。解剖已交配过的雌蚊受精囊, 确定受精率。子代幼虫按常规饲养至成蚊, 观察化蛹率、羽化率和成蚊性别比例。

卵巢营养细胞多线染色体观察

取 3 d ~ 5 d 龄亲代和杂种 F1 代雌蚊, 饱血后 28 h ~ 32 h, 待卵巢发育至克氏 期时解剖分离卵巢营养细胞, 按 Coluzzi^[5]法制作多线染色体标本, 染色体的分段按石裕明^[6]。

结 果

可育性

两地的微小按蚊杂交结果见表 1。Y × H 杂交

表 1 海南微小按蚊与云南微小按蚊的杂交结果
Table 1 Results of hybridization between *An. minimus* from Hainan and Yunnan

杂交组合 Crosses x	交配数 No. of mating	受精率 Insemination rate (%)	产卵率 Oviposition rate (%)	雌蚊平均产卵数 No. of eggs oviposition per femal mosquito	孵化率 Hatching rate (%)	幼虫 Larvae		蛹 Pupae		成蚊性别比例 Sex ratio of adult mosquitoes
						数 Number	化蛹率 Pupation rate (%)	数目 Number	羽化率 Emerging rate (%)	
1 Y × Y	33	39.4	33.3	90.6	81.2	809	68.7	556	96.0	1 0.98
2 H × H	29	37.9	34.5	53.6	33.2	178	92.7	165	94.6	1 1.05
3 H × Y	38	39.5	39.5	66.4	53.6	534	92.1	492	98.2	1 0.78
4 Y × H	30	40.0	36.7	63.6	0	-	-	-	-	-
5 (H × Y) F1 × Y	34	35.3	35.3	85.2	44.6	456	74.8	341	96.2	1 0.78
6 Y × (H × Y) F1	34	35.3	35.3	95.0	1.4	16	87.5	14	57.1	*
7 (H × Y) F1 × H	34	55.9	55.9	69.7	1.2	16	43.8	7	*	*
8 H × (H × Y) F1	33	72.7	72.7	55.5	18.2	242	87.2	211	97.2	1 1.59
9 (H × Y) F1 × (H × Y) F1	29	24.1	24.1	113.0	7.6	6	*	2	*	*

Y: 云南微小按蚊, H: 海南微小按蚊, * 由于蚊数少, 不能确定百分率

Y: *An. minimus* from Yunnan, H: *An. minimus* from Hainan, * The percentage could not be determined due to the small number of mosquitos

组受精和产卵均正常,但卵孵化率为0,解剖虫卵未见胚胎形成。 $H \times Y$ 杂交组后代虽能育,但除 $(H \times Y) F_1 \times Y$ 组外,其余 $(H \times Y) F_1$ 杂交组卵孵化率显著低于亲本自交组,可育性低。

卵巢营养细胞多线染色体

$(H \times Y) F_1$ 在常染色体3R的29区、36区和37区出现不联会,以36区和37区最恒定(图1)。X染色体上的4区和6区也有恒定的不联会(图2)。

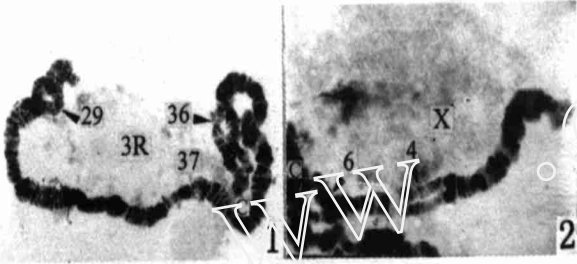


图1 $(H \times Y) F_1$ 雌蚊卵巢营养细胞多线染色体(图2同),示染色体3R的29区、36区及37区的区带不联会 图2示X染色体的4区和6区不联会

Fig. 1 Ovarian nurse cell polytene chromosome from $(H \times Y) F_1$ hybrid (the same in Fig. 2) showing asynapsis at the 29th, 36th and 37th zones in the 3R chromosome. Fig. 2 Asynapsis at the 4th and 6th zones in the X chromosome

讨 论

生殖隔离是鉴别按蚊复合体中亲缘种最可靠的指标之一。Kanda等^[7]通过杂交试验,发现微小按蚊日本株(ISG)和泰国I株(KCH-1)杂种后代卵孵化率低,认为有某些生殖隔离现象。叶奕英及石焕焕等用类似方法,分别对云南与广西微小按蚊实验品系和广西不同地理分布的微小按蚊进行了研究。前者发现有部分生殖隔离,后者认为广西南、北及西3地微小按蚊是同种。

本研究采用短期驯养的单雌繁殖线微小按蚊。

形态上两地微小按蚊很难区分,观察第4纵脉第1分枝,中间出现小淡斑者,海南微小按蚊占10%,云南微小按蚊占90%。杂交结果, $Y \times H$ 杂交组卵孵化率为0,卵内无胚胎形成,显示亲本杂交不育; $(H \times Y) F_1$ 回交组中,除 $(H \times Y) F_1 \times Y$ 组外,其余各组的卵孵化率均显著低于亲本,显示杂种后代的可育性低。在杂种 F_1 的卵巢营养细胞多线染色体的观察中也发现有恒定不联会区。由此可见,海南省与云南省两地微小按蚊已出现明显生殖隔离,我们认为两个亲缘种。至于广泛分布于海南省和云南省其他地区的微小按蚊是否尚存在另外的亲缘种,有待于进一步研究。

*获国家自然科学基金(No. 39460074)和广西自然科学基金(No. 9518013)资助项目
致谢:本研究得到海南省儋州市卫生防疫站和云南省玉溪地区卫生防疫站的协助,特此致谢!

参 考 文 献

- Supaxt S, Komalamisra N, Leemingsawat S, et al. Population genetic studies on the *Anopheles minimus* complex in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Pub Hlth 1988;19:717
- 叶奕英,许政拱,黄若密,等. 广西和云南两地微小按蚊杂交试验. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志 1992;10:287
- 石焕焕,袁志刚,何登贤,等. 桂南与桂西两地微小按蚊杂交试验. 广西医科大学学报 1994;11:365
- 石焕焕,黄若密,何登贤,等. 桂南与桂北微小按蚊杂交试验. 广西医科大学学报 1996;13:1
- Coluzzi M. Chromosomi politenici delle cellule nutriche ovariche nel complesso *Gambiae* del Genera *Anopheles*. Parasitologia 1968;10:179
- 石裕明,叶奕英. 广西微小按蚊卵巢营养细胞多线染色体的观察. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志 1990;8:117
- Kanda T, Ogawa K, Sucharit S, et al. Cytogenetic and hybridization studies among 3 strains morphologically varied and belonging to *Anopheles minimus* Theobald from Japan and Thailand. Cytologia 1984;49:865

1998年3月9日收稿 1999年6月3日修回

(编辑:李雅卿)

HYBRIDIZATION EXPERIMENTS USING ANOPHELES MINIMUS FROM HAINAN AND YUNNAN

SHI Huanhuan, TIAN Chunlin, HE Dengxian

Department of Parasitology, Guangxi Medical University, Nanning, 530021

ABSTRACT

AIM: To observe whether there were any intra-species differences between *Anopheles minimus* from Hainan (H) and Yunnan (Y). **METHODS:** *Anopheles minimus* were collected from cattle shed on the spot. Each isofemale line was set up in the laboratory. Hybridization experiments were conducted by using forced mating between *Anopheles minimus* from Hainan and Yunnan, for observing the reproductive ability of F_1 hybrids. Ovarian nurse cell polytene chromosomes of F_1 hybrid females were examined, to observe any synapsis in different zones of chromosomes. **RESULTS:** No embryo formation was found within the eggs produced by group $Y \times H$, the hatching rate was zero. Low hatching rate was shown in other groups with $(H \times Y) F_1$, except for groups with $(H \times Y) F_1 \times Y$. Ovarian nurse cell polytene chromosomes from $(H \times Y) F_1$ hybrid females showed constant asynapsis at the 29th, 36th and 37th