

实验室内中华白蛉自体生殖的观察

熊光华 赵佳 葛建军 金长发

(中国医学科学院寄生虫病研究所)

摘 要

本文报告实验室内中华白蛉自体生殖观察的结果。成蛉腹节背面第2—3节上的暗斑及胃内蛹便是羽化后尚未吸血白蛉的标志。而自体生殖的标志尚应在腹节内查见脂肪体,附腺含颗粒和正在发育着的卵泡。对自体生殖中华白蛉卵的形成与发育作了详细观察。它们依靠腹节内脂肪体发育卵和附腺。在 $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 下,早则在羽化5天后,卵可以成熟,第6天产卵。以动物的血饲白蛉的实验结果表明自体生殖白蛉产卵前一般无须吸血,少数吸血的可促进第二卵泡的发育,缩短第二次产卵期。根据实验室内羽化出两代从未吸过血的雌性中华白蛉159只全部呈现自体生殖的事实,作者认为陕北宜川和山西太原的中华白蛉是属于自体生殖品系。本文就自体生殖的有关问题结合文献作了分析和讨论。

白蛉附腺呈指形,位于卵巢的两侧,吸血前,附腺半透明,体积小而皱褶。吸血后,随着卵的发育,附腺增大并充满暗色颗粒。Adler和Theodor(1935)首先利用这一特点提出了附腺颗粒的出现可以作为白蛉已经吸血和产卵的标志,此种标志曾广泛应用于白蛉种群动力学的研究,以区别吸过血已经产卵的白蛉和未曾吸血的白蛉,从而评定白蛉防制的效果,并阐明白蛉媒介生物学、生态学及其与利什曼病传播的关系等。然而,有些研究白蛉的学者,对美洲若干白蛉种类的附腺中颗粒的形成提出了不同的看法,已见于Garnhan等(1959),Johnson(1961),Lewis(1965),Ward(1974)的报告中。1979~1980年间,我们分别在陕北宜川和山西太原的中华白蛉居群内,发现有自体生殖的白蛉存在(熊光华等,1981)。它们在不吸血的情况下,交尾以后,依靠自体营养进行生殖,其附腺内亦含有颗粒与吸血白蛉的附腺颗粒难以区别。这样加以附腺颗粒的有无作为中华白蛉已否吸血的指征便失去其评定意义。本文研究的目的是1)在于探讨分辨吸血与未吸血白蛉的简便方法,以弥补用附腺颗粒作为评定依据的不足;2)观察自体生殖中华白蛉卵的发育和附腺颗粒形成的过程;3)观察支持蛉卵发育的

* 世界卫生组织疟疾、血吸虫病、虫媒病合作中心。

本文系熊光华教授生前审阅指正。本研究得到联合国开发计划署/世界银行/世界卫生组织热带病研究培训特别规划的部分支持。

本文1982年5月4日收到,1983年1月27日收到修改稿。

因素,以及自体生殖白蛉在产卵前能否吸血的问题,为自体生殖中华白蛉的生物学、白蛉种群动力学及其野外防制方法积累并提供必要的基础知识。

一、观察方法

实验用的白蛉系从山西太原和陕北宜川采集的。白蛉饲养是根据 Killiick-Kendrick (1977) 的方法加以改进。用兔肝粉和酵母粉作为白蛉幼虫的饲料。实验室的温度控制在 $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 下,成龄饲养的湿度一般为 $60\sim 70\%$,产卵前的湿度为 $95\sim 100\%$ 。化蛹后,将蛹体移入新的饲养罐等待羽化。羽化的雌雄蛉交尾后分别置于新的不加任何食物的饲养罐,并按 $3\sim 6$ 、 $12\sim 18$ 、 $20\sim 24$ 小时及第 2、3、4、5、6、7、8 天分别进行解剖。观察腹节内脂肪体含量的变化、胃含物、附腺颗粒存在与否及其卵泡的发育。逐日用肉眼及解剖镜检查羽化后白蛉体表特征的变化。随意选用羽化后 24 小时的白蛉以动物进行饲血实验,观察不同日龄的白蛉对血食的嗜性。对自体生殖白蛉产出的蛉卵,待孵出幼虫后用兔肝粉和酵母粉继续饲养,并观察其羽化的第 2 代是否仍为自体生殖。

二、观察结果

1. 中华白蛉自体生殖品系与正常品系的鉴别:根据观察,每只新羽化的中华白蛉,在其腹背面第 2~3 节上都有一个肉眼可见的暗斑(图 A),以后逐日检查,除个别白蛉外,这个暗斑持续存在至第 6 天始行消失。解剖时,有暗斑的白蛉,在消化道中、前胃内都可以见到带棕绿色的蛹便(图 B),此物是幼虫期遗留的,系蛹期羽化后尚未排泄的物质。白蛉腹背上所见的暗斑,就是蛹便的影响。随着蛹便的消失,正常的白蛉才开始吸血。所以,蛹便与暗斑可以作为羽化后未吸血中华白蛉的标志。至于自体生殖的中华白蛉,除了暗斑与蛹便外,尚应在腹节内见到数量不等的脂肪体以及在发育中的卵泡,附腺内含有颗粒。非自体生殖的正常白蛉则与之不同,按照上述依据可以将白蛉分为 1) 羽化后未吸血(正常品系), 2) 自体生殖型, 二种类型。

2. 自体生殖中华白蛉卵的发育和附腺颗粒形成的过程:1980年8月至1981年12月,对实验内饲养羽化 1~2 代的雌性中华白蛉共 159 只(从未给过食物),进行了解剖观察,除了在羽化后 3~18 小时的 12 只白蛉和羽化后 20~24 小时的 11 只白蛉中的 1 只因为羽化为时尚短,附腺和卵泡尚未发育外,其余的白蛉在剖检时均鉴定为自体生殖白蛉。这些白蛉卵的发育和附腺颗粒的形成与羽化时间的长短有关。在羽化 3~18 小时内的 12 只白蛉,卵巢内的小卵泡体积小呈小圆球形属原始未发育状态,或仅见分化的生殖细胞和营养细胞,卵泡内无卵黄颗粒(图 C-0),附腺也未见发育(图 D-(1))。在羽化 20~24 小时内的 11 只白蛉,除 1 只卵巢及附腺尚未发育外,其余的白蛉附腺内都有颗粒(图 D-(2))。卵泡呈卵圆形体积略有增大内有卵黄颗粒,有时多达卵泡体积的 $1/2$ (图 C-1)。在羽化 25 小时以上的 136 只白蛉除个别因解剖不慎未能查见外,附腺内全部有颗粒。卵泡的发育随羽化时间的增长而发育。其中,羽化 25~48 小时的白蛉,卵泡体积相应增大,作椭圆形,卵黄颗粒占有卵泡体积的 $2/3$ (图 C-1)。羽化 49~72 小时的

白蛉绝大多数的卵泡发育进入Ⅱ期, 长宽比例为1.6:1, 卵黄占据卵泡的3/4, 第2卵泡的雏形业已可见(图C—Ⅲ)。羽化73~96小时的白蛉, 卵泡又有所增长, 其长宽比例为2.0:1, 卵的外形已基本形成, 卵黄占据卵面的9/10(图C—Ⅳ)。在羽化97~120小时的白蛉, 除部分的卵泡仍如上述外, 长椭圆形或香蕉形的近成熟或成熟的蛉卵已经出现(图C—Ⅴ), 其长宽比例约为3.4:1, 卵黄已占满全卵。游离于子宫的成熟蛉卵已完全与第2卵泡脱离, 其长宽比例接近于5:1。至羽化第6天或以上的白蛉, 如及时调节饲养罐的湿度至90~100%, 白蛉随即产卵, 如欲延缓卵的产出则降低罐内湿度至80%。自体生殖中华白蛉从羽化至卵成熟快则仅须5天, 在同一温度的条件下, 与正常吸血白蛉卵的发育时间基本相符。

3. 自体生殖白蛉腹节脂肪体与蛉卵发育、附腺颗粒形成的关系: 根据对159只自体生殖白蛉解剖观察的结果, 日龄在6天以上的白蛉, 随着腹节内脂肪体不断地消耗, 卵泡的发育趋于成熟或已产卵, 可见, 脂肪体是支持卵泡发育的物质基础, 起了取代血食的作用。根据观察日龄在5天内的白蛉, 腹节内均可查见或多或少的脂肪体, 表明腹节内的脂肪体与白蛉卵的发育, 附腺颗粒的形成有着不可分割的关系。在羽化18小时内的白蛉, 腹节内含有大量块状脂肪体(图E—F)。当腹节内块状脂肪体显示减少时, 卵泡已发育至Ⅱ期, 随着解剖时距的延长, 卵泡继续的发育, 块状脂肪体则逐渐减少至卵渐次成熟时, 块状脂肪体不仅消失, 被消耗成为条状脂肪体的数量也显著减少, 甚或仅能及见脂肪滴。至卵成熟或产卵后, 脂肪体仅存残余或消失殆尽。关于腹节内脂肪体与蛉卵发育和附腺颗粒形成的相互关系详见下表。观察表明白蛉卵发育与附腺颗粒形成是同时进行的, 都是依靠脂肪体供给养料。当脂肪体用于发育卵泡时, 其部分代谢产物进入附腺, 使附腺体增大充满颗粒。其实质与吸血白蛉促进卵泡发育时, 血的部分代谢产物随即进入附腺使腺体增大充满颗粒的结果完全相似。不同者在于自体生殖依靠脂肪体而正常的吸血白蛉则靠血食。此外, 解剖检查了20余只4龄中华白蛉的幼虫和3只蛹体, 发现这些幼虫和蛹的腹节内同样蓄积着与成蛉完全相同的块状脂肪体, 可以认为成蛉的脂肪体来自幼虫并通过蛹体带入成虫。

表1 159只自体生殖中华白蛉腹部脂肪体的变化与蛉卵发育及附腺颗粒形成的关系

羽化时间	解剖数	腹节内脂肪体状态	附腺	卵果	其它
3~8小时	12	12只白蛉均见大量块状脂肪体充满腹节内	附腺无颗粒	卵泡未发育, 卵泡内无卵黄颗粒	
20~24小时	11	见有大量块状脂肪体	10只附腺有颗粒 1只附腺无颗粒	10只卵Ⅰ期, 1只卵池未发育	
第2天	15	块状脂肪体略见减少	附腺全部有颗粒	卵泡发育入Ⅱ期	
3天	6	条状脂肪体出现	附腺全部有颗粒	4只卵泡为Ⅰ~Ⅱ期 2只卵泡为Ⅲ期	
4天	6	块状脂肪体消失, 仅见线条状脂肪体	5只附腺有颗粒, 1只未查见到附腺	6只卵泡为Ⅳ期	
5天	7	5只有少量线条状脂肪体, 1只脂肪体消失	附腺全部有颗粒	4只卵泡为Ⅴ期 3只Ⅳ~Ⅴ期	
6天	20	13只脂肪体消失, 7只仅见微量	附腺全部有颗粒	卵泡全部入Ⅴ期	12只产了卵
7天	34	28只未见脂肪体, 6只微量	附腺全部有颗粒	卵泡全部入Ⅴ期	15只产了卵
8天	48	38只无脂肪体, 10只残存微量	1只附腺未查见, 47只附腺有颗粒	卵泡全部入Ⅴ期	25只产了卵

4. 不同日龄白蛉饲吸动物血的实验：为了观察羽化不同日龄的白蛉，在充分供给吸血条件下，是否即时吸血，曾作了如下实验。将背纹仓鼠 (*Cricetulus baranesis*) 先用10%乙酰胺水溶液注射腹腔 (体重20克注射0.6毫升)，使动物麻醉后，拔去腹侧上的毛，将除毛的腹部贴靠在盛有白蛉的饲养罐口的绢纱上，供白蛉自由吸血。每次饲血4~6小时，如不吸血次日继续再饲。曾以24小时以上羽化的白蛉49只作了73次饲血实验，计244龄次，平均每只白蛉连续作了5次试验，仅有6只白蛉吸血 (2.5%)。剖检结果，除1只系在羽化4天后仅吸少许血外，5只吸血白蛉都在羽化5~8天后吸血的，解剖时腹节内含有成熟或近成熟的蛉卵和新发育的卵泡，前者显然是自体生殖形成的蛉卵，后者则是吸血后重新发育的卵泡。观察表明自体生殖白蛉在产卵前吸血仅属少数 (2.5%)，但它能促进第二卵泡的发育缩短第二次产卵期。有1只产卵前吸血的自体生殖白蛉，其两次产卵相隔仅有3.5天。大多数屡次拒绝吸血的白蛉，解剖时，卵泡均已发育，在胃内都含有棕绿色的蛹便，提示蛹便能抑制白蛉吸血，这与吸血白蛉当胃内血便未排尽时难以重新吸血的情况颇为相似。

三、讨 论

Johnson (1961) 将葛氏卢蛉 (*Lutzomyia gomezi*) 交配后不需吸血即能产卵繁殖的现象称为自体生殖 (autogenous)，而将需要吸血才能发育卵的同种卢蛉称非自体生殖 (anautogenous)。他观察到两型卢蛉不易交配，即使交配，产出的卵也不能孵出幼虫，从而认为自体生殖是一个独立品系。据 Spelman (1971) 的研究，尖音库蚊复合种群中的自体生殖品系与非自体生殖品系还存在染色体的差异。本文观察表明山西太原和陕北宜川的中华白蛉在实验室内饲养而羽化的第一代自体生殖白蛉，在不给任何食物情况下，继续产卵，直至羽化出第二代的白蛉共计159只全部呈现自体生殖的事实，似可认为在我国上述地区的中华白蛉也是一个独立的自体生殖品系，具有稳定、遗传的特点。此类白蛉无论在自然界或实验室内，均能在腹节内找到大量脂肪体，尤其是羽化早期卵泡发育处在 I~III 期的白蛉为然。因此，中华白蛉腹节内的脂肪体还可视为本种白蛉自体生殖的标志，用于鉴别中华白蛉居群是否存在自体生殖的探索。

既往有人认为自体生殖可能与幼虫期的营养基质有关。然而，Johnson (1961) 给正常的葛氏卢蛉优越的营养条件，连续饲养了13代并未发现过自体生殖的现象。我们从自体生殖的中华白蛉腹节内存在大量脂肪体的事实，表明营养对自体生殖仍为必要，但决定自体生殖的关键尚在于虫体内部遗传因子及其内在生理性联系，例如采自陕北宜川的孙氏司蛉在相同条件下饲养的结果未曾出现自体生殖的现象，说明营养不是自体生殖的决定因素。

Gemetchu (1976) 在埃塞俄比亚新羽化的长足白蛉 *P. longipes* 的胃内查见过蛹便，并称在蛹便未消失前白蛉难以吸血。根据观察，中华白蛉胃内蛹便的存在的确抑制了它的吸血。由于自体生殖的中华白蛉并不需要吸血来发育卵巢，蛹便的存在对卵的发育并无障碍，这类白蛉早在羽化5天后卵即开始成熟第6天产卵。需要吸血来发育卵的非自体生殖的白蛉，则由于蛹便的存在将抑制吸血，使吸血时间推迟。根据饲血实验观

察以及大多数白蛉蛹便消失的时间推算, 正常吸血白蛉要在羽化后 5 天才有可能开始吸血, 从而延缓了卵的发育。所以在同样吸血一次的情况下, 自体生殖的白蛉不但卵的发育期缩短而且将较正常的白蛉多产一次蛉卵。

Lewis (1971) 指出, 自体生殖白蛉可以促进居群迅速的增加并加速媒介传播的强度。上文(熊光华等, 1981)也曾指出自体生殖白蛉的存在, 有可能扩大本种白蛉的繁殖力从而增加自然居群的数量, 此次观察似已表明自体生殖可能是山西太原和陕北宜川中华白蛉居群的一种普遍的生殖现象, 这对本种居群数量的增加是可以理解的。

关于吸血昆虫腹节内脂肪体的作用机理似视不同虫种而异。许多蚊虫的成虫当其腹节内脂肪体增多时, 预示着滞育的开始, 这种脂肪体实质上起到抑制卵的发育保护自体的作用。另有不少自体生殖的蚊虫是由幼虫期过剩的脂肪体蓄积的结果(Spielman, 1971)。Ward (1974) 发现新羽化的长须卢蛉 *Lutzomyia longipalpis* 的大多数腹节内均有脂肪体, 它能导致附腺颗粒的形成不能促进卵的发育。我们比较观察了实验室羽化的孙氏司蛉的腹节内亦有脂肪体, 但始终不能形成自体生殖也未见产生附腺颗粒。然而 Johnson (1961) 发现葛氏卢蛉 (*Lutzomyia gomezi*) 的自体生殖腹节内都含有丰盛的脂肪体。龚和等 (1982) 指出, 昆虫体内的脂肪体与高等动物肝脏具有相似的功能, 是昆虫体内营养物质储存和中间代谢产物的核心组织。从而, 山西太原和陕北宜川的中华白蛉的腹节内脂肪体起到替代血食支持蛉卵的发育, 也是理所当然的。

基于以上事实, 我们认为在我国的中华白蛉居群内显然存在着自体生殖和非自体生殖(正常品系)两种类型, 但此次实验室内所见的全部属于自体生殖品系, 这些白蛉保留着非血食和血食两种的繁殖现象可以认为它是吸血昆虫生理上存在的一种比较特殊的类型。从演化的观点看它可能属于比较原始的种类。

参 考 文 献

- 熊光华、朱显因、赵佳 1981 我国首次发现自体生殖中华白蛉。动物学研究2(3):291~293。
 龚和、张建中 1982 昆虫血淋巴和血淋巴体积的测定方法。昆虫知识19(2):36~38。
 Adler, S. et. Theodor, O. 1935 Investigations on Mediterranean kala-azar VII. *Proc. Roy. Soc. (B)* 116:506—515。
 Garnham, P. C. et al. 1959 Parasites of British Honduras with special reference to leishmaniasis, *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 53(1):12—35。
 Gemetchu, T. 1976 The biology of a laboratory colony of *Phlebotomus longipes* Parrot and Martin (Diptera, Phlebotomidae), *J. Med. Ent.* 12(6):661—671。
 Johnson, P. T. et al. 1961 The rearing of *Phlebotomus* sandflies I. Development and behavior of Panamanian sandflies in the laboratory culture, *Ann. Ent. Soc. Amer.* 54(6):764—776。
 Johnson, P. T. 1961 Autogeny in Panamanian *Phlebotomus* sandflies (Diptera, Psychodidae), *Ann. Ent. Soc. Amer.* 54(1):116—117。
 Killick-Kendrick, R. et al. 1977 The establishment, maintenance and productivity of a laboratory colony of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae), *J. Med. Ent.* 13(4—5):429—440。
 Lewis, D. J. 1966 Internal structural feature of some Central American Phlebotomine sandflies. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 59(4):375—385。
 Lewis, D. J. 1971 Phlebotomid sandflies. *Bull. Wild Hlth Org.* 44(4):535—551。
 Spielman 1971 Bionomics of autogenous mosquitoes, *Ann. Rev. Ent.* 16:231—248。
 Ward R. D. 1974 Granule formation in the accessory gland of a laboratory strain of *Lutzomyia longipalpis* from Ceara State, Brazil, *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 68(2):171。

**OBSERVATIONS ON AUTOGENY OF
PHLEBOTOMUS CHINENSIS NEWSTEAD
(DIPTERA, PHLEBOTOMIDAE) IN LABORATORY**

Xiong Guanghua Zhao jia Ge Jianjun Jin Changfa

(Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Medical Sciences*)

A laboratory-reared colony of *P. chinensis* without taking any blood meal was observed.

All the newly emerged sandflies had a small dark spot on their abdominal tergite 2 to 3 and brownish meconium in their guts which disappeared 6 days later.

Both dark spot and brownish meconium are proved to be a valuable indications of newly emerged and unfed individuals of *P. chinensis*.

Observations on the formations of accessory gland granules and the development of eggs in autogenetic *P. chinensis* under laboratory conditions were undertaken.

All of the 159 sandfly specimens dissected between 1 and 5 days after emergence showed well-developed fat bodies, which had remained in the fourth larval stage and consequently in the pupa. Of the 12 sandfly specimens dissected between 3 to 18 hours of emergence, neither granules in the accessory gland nor developed ovaries were seen.

10 out of 11 females dissected from 20 to 24 hours after emergence had granules in the accessory glands and their ovaries showed signs of development.

136 females dissected between 25 to 192 hours after emergence presented follicles at various stages of development, with 52 laying fertile eggs and all sandflies had granules in their accessory glands.

The results suggested that instead of blood meals, *P. chinensis* utilized fat bodies to support the development of ovaries in autogeny, and fat bodies were partly metabolized to form granules in the accessory glands, the two processes were thought to be synchronized.

While the fat bodies of sandflies were diminishing gradually with their ovarian development, mature or nearly mature eggs were seen.

Although sandflies refused to take blood during the first 4 days after emergence, they would suck blood when meconium disappeared and their eggs were almost mature.

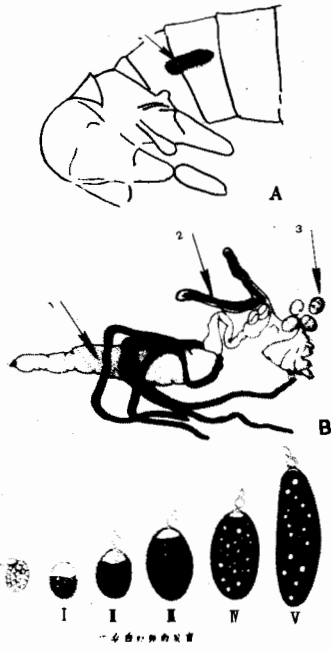
Since accessory gland granules are present in both fed and unfed sandflies of *P. chinensis*, they should not be considered as a reliable criterion for distinguishing sandflies which have already taken blood from those which haven't.

Our results also showed that the reproduction of *P. chinensis* must be of two forms, the first one autogenous form, which produced eggs by utilizing the fully developed fat bodies, while the other is normal or anautogenous form which needed blood meals for egg laying. Our laboratory experiments, however, showed that autogeny was the only form of reproduction in *P. chinensis* collected from north-west China. It is no doubt, a specific phenomenon among blood sucking dipteran species.

* WHO Collaborating Center for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis (Partial financial support was received from UNDP/World Bank/WHO TDR)

熊光华等：实验室内中华白蛉自体生殖的观察

Xiong Guanghua et al.: Observations on Autogeny of Phlebotomus Chinensis Newstead (Diptera: Phlebotomidae) in Laboratory



- A. 新羽化未吸血中华白蛉的暗斑 60×
- B. 羽化24小时的自体生殖中华白蛉 1. 蛹便 2. 附腺 3. 发育的卵泡 150×
- C. 自体生殖中华白蛉卵的发育过程
- D. 自体生殖中华白蛉的附腺 1. 羽化3~18小时 2. 羽化24小时以上 150×
- E. 羽化24小时的自体生殖中华白蛉腹节内脂肪体及卵泡 150×
- F. 羽化24小时的自体生殖中华白蛉腹节内脂肪体 300×



容寿柏等：华北蝼蛄胚胎发育的观察研究

Rong Shoubai et al.: Observations and Studies on the Embryonic Development of Gryllotalpa unispina Saussure

华北蝼蛄胚胎发育外形图说明 (30×)

- 图1. 发育1天的卵胚背面观
- 图2. 发育2天的卵胚背面观
- 图3. 发育3天的卵胚背面观
- 图4. 发育4天的卵胚背面观
- 图5. 发育5天的卵胚背面观
- 图6. 发育6天的卵胚背面观
- 图7. 发育7天的胚胎拉直腹面观
- 图8. 发育8天的胚胎拉直腹面观
- 图9. 发育9天的胚胎拉直腹面观
- 图10. 发育10天的胚胎拉直腹面观
- 图11. 发育11天的胚胎拉直腹面观
- 图12. 发育12天的胚胎腹面观
- 图13. 发育13天的胚胎腹面观
- 图14. 发育14天的胚胎腹侧面观

