

我国不同地理株白紋伊蚊杂交、自育性、幼虫期发育速度及蛋白电泳带的实验观察

崔可伦 何桂铭 钱炯国

(寄生虫学教研室)

徐晓利

(生化学教研室)

白纹伊蚊是我国常见蚊种之一,传播登革热及乙型脑炎等疾病。由于该蚊在我国地理分布面广,为了解不同地理株白纹伊蚊某些生态学和生物学的特点,对全国10个不同地理株进行杂交、自育性、幼虫期发育速度及蛋白电泳带的实验观察,作为今后进一步研究媒介宿主与病源体的关系以及探索防制方法的基础。这10个地理株来自北京、郑州、合肥、上海、成都、武汉、南昌、广州、南宁和湛江。对上述10个地理株的标本进行形态鉴定,均为白纹伊蚊(*Aedes albopictus*)。

各地理株的白纹伊蚊均饲养在同一实验条件下,维持温度在 $28 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$,相对湿度90%左右,光周期每天光照12小时。幼虫每100条饲养在200毫升容量的瓷碗,每天餵饲3:7的兔肝和酵母粉。成虫按实验需要给予10%葡萄糖液或兔血。

一、不同地理株白紋伊蚊杂交试验

我们在10个地理株中,挑选南北、东西方向较远的4株作为两对,进行杂交,即广州对北京株、成都对合肥株,初步观察是否有生殖隔离的迹象,然后再考虑进一步的实验。我们参照Bates(1949)⁽²⁾, Davidson(1963)⁽³⁾, Rozeboom(1958)⁽⁷⁾的有关杂交试验方法,进行亲代杂交,以及杂交子₁代与亲代反交试验。白纹伊蚊吸兔血后,产卵在潮湿滤纸上,孵育4天后放入水中,连续观察15天,计算蚊卵的孵出率,并观察幼虫存活率和雌性比率。

从表1及表2的实验结果,比较亲代杂交、杂交子₁代反交与对照株,孵化率波动在60.13%~84.42%之间,其中大多数(占总数60~70%)是放入水中第一天便孵出,5天内基本孵化完毕,可见经孵育在卵的胚胎,对孵化刺激反应基本上是一致的。而且

杂交、反交后的幼虫存活率和雌性比率，与亲代基本一致。从上述结果看来，广州与北京株、成都与合肥株杂交不存在生殖隔离现象。因此，我们不作进一步其它地理株的杂交试验。

表 1 广州、北京白纹伊蚊株杂交

	雄 蚊	雌 蚊	观察卵数	孵 化 率 (%)	幼虫存活 率 (%)	雌性比率 (%)
亲 杂 代 交	北 京 株	广 州 株	844	71.45	93.67	50.89
	广 州 株	北 京 株	1105	69.32	94.67	55.28
子 ₁ 株 代与 亲代 反交 广 州	北京♂广州♀	广 州	800	65.38	92.15	46.30
	广 州	北京♂广州♀	1513	77.20	85.67	48.64
	广州♂北京♀	广 州	407	71.25	89.86	51.61
	广 州	广州♂北京♀	1535	60.13	92.33	44.40
对 照	北 京 株	北 京 株	1718	79.28	94.00	56.74
	广 州 株	广 州 株	2174	84.08	91.67	49.45

表 2 成都、合肥白纹伊蚊株杂交

	雄 蚊	雌 蚊	观察卵数	孵 化 率 (%)	幼虫存活 率 (%)	雌性比率 (%)
亲 杂 代 交	合 肥 株	成 都 株	810	75.80	85.33	57.81
	成 都 株	合 肥 株	450	70.00	86.67	50.77
子 ₁ 株 代与 亲代 反交 成 都	合肥♂成都♀	成 都	448	62.72	92.63	45.77
	成 都	合肥♂成都♀	762	84.38	89.33	50.75
	成都♂合肥♀	成 都	570	75.80	92.12	43.37
	成 都	成都♂合肥♀	239	65.27	92.58	51.57
对 照	合 肥 株	合 肥 株	485	80.82	84.64	60.34
	成 都 株	成 都 株	828	84.42	93.67	59.79

二、不同地理株白纹伊蚊幼虫期发育速度

每100条幼虫每天给予150毫克3:7的兔肝和酵母粉，每天换水一次，并记录变蛹、羽化的蚊数。从图1可以看到，10个地理株的幼虫均在饲养的第5天开始变蛹、第

7 天开始羽化成虫, 第6、第8天分别是蛹化、羽化的高峰, 幼虫期均需 8 天左右完成, 不同地理株白纹伊蚊幼虫期发育速度基本上是一致的。

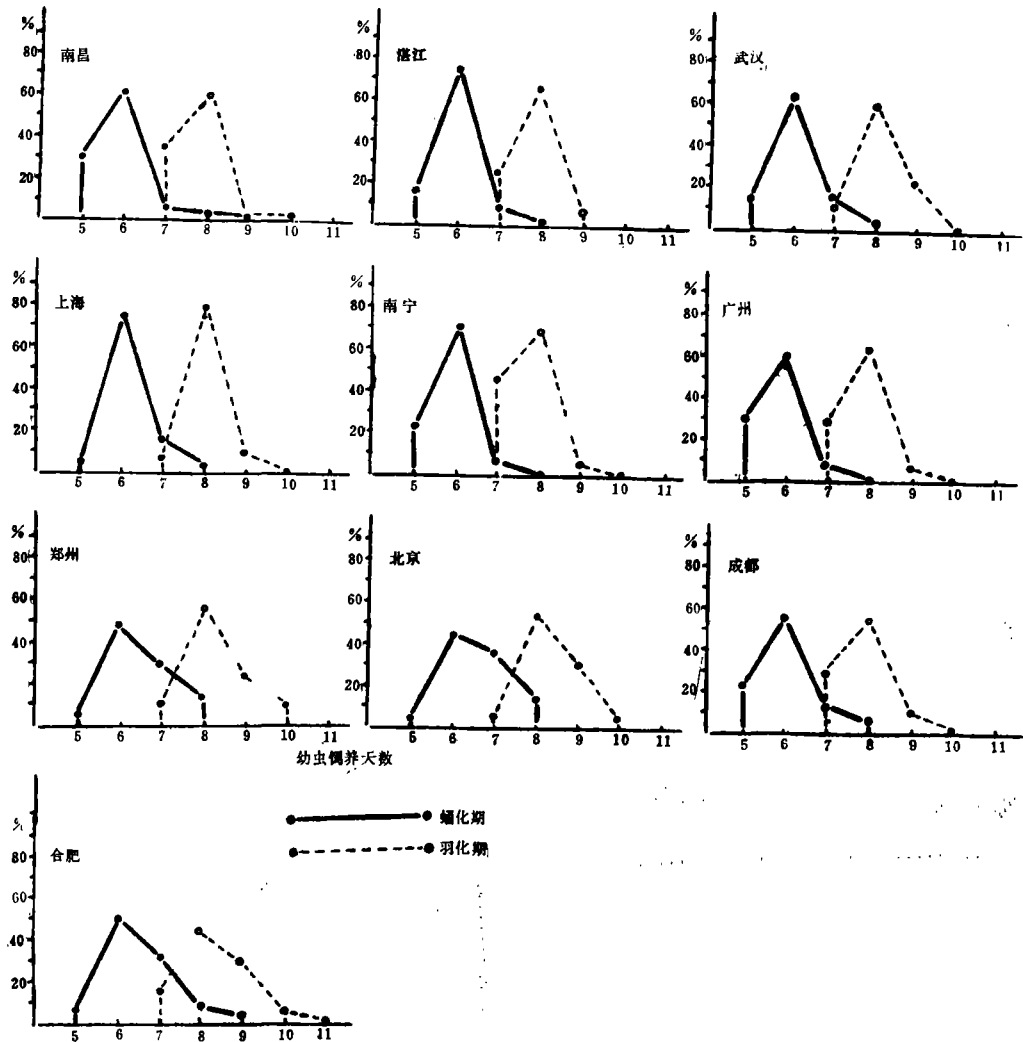


图 1 不同地理株白纹伊蚊幼虫期发育速度

三、不同地理株白纹伊蚊的自育性

新羽化的雌蚊, 在不吸血或不吸食其它蛋白质的条件下, 能够产卵, 这种特性称之为自育性 (Autogeny) (°)。作者在广州地区首次发现白纹伊蚊具有自育性(1), 为了解我国各地白纹伊蚊的自育性, 对上述10个地理株进行实验观察, 并沿用下列两个指标确

定自育性及自育性的水平。

自育率 (Autogeny rate) (%)：在羽化后第7天，计算每100只雌蚊中，卵巢发育超过克氏Ⅱ期的蚊数。

自育指数 (Autogeny index) (°)：计算平均每只实验雌蚊已产出的卵和未产出的克氏Ⅴ期卵的数目。

表3 不同地理株白纹伊蚊的自育性

地 理 株	北京	郑州	合肥	成都	上海	武汉	南昌	广州	湛江	南宁
观察蚊数	285	298	277	323	314	252	279	334	321	339
自育率 (%)	53.57	44.68	40.54	56.67	50.88	53.09	56.94	52.38	55.32	64.81
自育指数	0.46	0.23	0	1.67	0.04	0.15	0.92	0.10	0.74	0.98

表3是各地理株自育性的观察结果，表明各地的白纹伊蚊均具有自育性。从自育率计算，不吸血新羽化的雌蚊，40.54~64.81%的卵巢发育超过克氏Ⅱ期，各地自育水平比较接近。但从自育指数计算则波动较大，在0~1.67之间，这可能由于白纹伊蚊是低水平的自育性，而自育指数不如自育率敏感。而且我们对广州株白纹伊蚊自育性进行多次测定，自育率相对稳定，而自育指数波动较大⁽¹⁾，所以我们认为采用自育率来评价白纹伊蚊的自育性较好。

四、白纹伊蚊十二烷基磺酸钠聚丙烯酰胺凝胶蛋白电泳

我们参考 Laemmli (1970)⁽⁵⁾的方法，将100只白纹伊蚊成虫（雌性或雄性）加入0.5毫升0.85%生理盐水中，用组织磨碎器研磨15分钟，反复冻融10次，3,000转/分钟离心半小时，吸取上清液，与变性缓冲液（内含β-巯基乙醇、十二烷基磺酸钠、甘油、三羟甲基-氨基甲烷缓冲液）1:1混合，置于沸水浴中2分钟。然后，取每种地理株白纹伊蚊上述液体25微升进行电泳，浓缩胶浓度为3%，分离胶浓度为15%，在浓缩胶段每板电流强度维持在25毫安，分离胶段维持在12毫安，室温电泳3小时。用甲醇、20%醋酸（1:1）固定，0.1%考马氏亮蓝R250染色3小时，洗脱后置于7%醋酸中保存。

为了鉴定这种方法对不同蚊种的区别能力，我们将致乏库蚊与白纹伊蚊进行比较，两者出现部分不相同的区带，致乏雄蚊在移行率0.26处比白纹伊蚊多一条蛋白带，致乏雌蚊在移行率0.35处比白纹伊蚊多一条蛋白带，雌、雄致乏库蚊在移行率0.50的蛋白带均比白纹伊蚊多一条。

由于我们用兔肝粉和酵母粉饲养幼虫，而兔肝粉含较多的蛋白质，所以我们不采用幼虫进行实验，而采用刚羽化的成虫。

本实验将雌性与雄性蚊分开进行实验,由于雌蚊体大,含蛋白量多,故呈现的蛋白带也较多而清楚。Igbokwe (1978) (4)应用蛋白带相对移行率 (%Rmb) 区别不同地理株的埃及伊蚊 (*Aedes aegypti*), 认为雌性蚊的差异比雄性大, 易于区别不同的种株。所以我认为采用雌性成虫进行种株区别较理想。

从图2可以看到10株雌性白纹伊蚊的蛋白带图谱却是一样的。比较明显的, 可以数出15条蛋白带, 它们的移行速度完全相同。

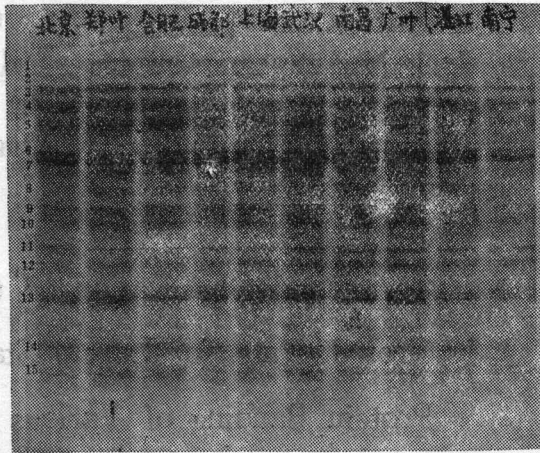


图2 10株雌性白纹伊蚊十二烷基
酸钠丙烯酰胺凝胶电泳

小 结

本文对我国不同地理株白纹伊蚊, 进行杂交、自育性、幼虫期发育速度及蛋白电泳带的实验观察。实验结果表明, 这10个不同地理株的白纹伊蚊在上述几方面基本上是相同的, 并没有发现相异之处。

(本文的白纹伊蚊地理株分别由北京医学院、河南医学院、安徽医学院、上海第二医学院、江西医学院、广西医学院和湛江医学院的寄生虫学教研组, 以及湖北寄生虫病研究所、四川寄生虫病研究所提供, 谨此致谢)

参 考 文 献

- (1) 崔可伦: 广州地区白纹伊蚊的自育性. 昆虫学报 25 (3) : 256, 1982
- (2) Bates M: Natural history of mosquitoes. The Macmillan Co. 1949
- (3) Davidson G and Mason G F: Genetics of mosquitoes. Ann Rev Ent 8 : 177, 1963
- (4) Igbokwe E C: Differential electrophoretic behavior among strains of *Aedes aegypti*. J Med Ent 14 (6) : 662, 1978
- (5) Laemmli U K: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227 : 680, 1970
- (6) Rioux J A et al: Presence du caractere autogene dans les populations unisiennes de *Guliseta subochrea*. Ann Parasit Hum Gomp 49 : 373, 1974

- [7] Rozeboom L E and Kitzmiller J B: Hybridization and speciation in mosquitoes. *Ann Rev Ent* 3 : 231, 1958
- [8] Trpis M: Autogeny in diverse population of *Aedes aegypti* from East Africa. *Tropenmed Parasit* 28 (1) : 77, 1977
- [9] Chapman H C: A survey for autogeny in some Nevada mosquitoes. *Mosq News* 22 : 134, 1962

Experimental Observation on the Hybridisation, Autogeny,
Growth Rates of Larval Stage and Electrophoretic
Protein Banding of Various Geographical
Strains of *Aedes albopictus* from China

Cui Kelun He Guiming Qian Jiongguo
(Department of Parasitology, Zhong Shan Medical College)

Xu Xiaoli
(Department of Biochemistry, Zhong Shan Medical College)

Abstract

This paper deals with the ecological and biological characteristics of ten geographical strains of *Aedes albopictus* from China. Crossing of Beijing and Guangzhou strains, and of Chengtu and Hefei strains gave fertile hybrid males and females. Back-crossing to their parents produced no sterile males. In comparison of crossing and back-crossing with control, the hatching rates, larval survival rates and female rates showed no significant differences. It seems that there is no reproductive isolation between these strains. The larval stage growth rates of these ten geographical strains were similar to each other and all of them displayed autogeny (with autogeny rates varying from 40.54~64.81%). Electrophoretic analysis demonstrated that all these strains exhibited similar protein banding patterns.