

## 七星瓢虫雌成虫卵巢发育不同 阶段体内保幼激素的含量

傅贻玲 陈志辉

(中国科学院动物研究所)

**摘要** 本文以大蜡螟 *Galleria mellonella* (L.) 为生测昆虫,应用蜡测定法(Wax test)测定了取食天然食物及人工饲料的七星瓢虫雌成虫在不同卵巢发育阶段体内保幼激素(JH)的含量。取食蚜虫者羽化后8日左右(卵巢管内出现第三卵母细胞,卵黄大量沉积即将排卵),雌虫JH含量达到高峰(593.3 G. U.),但一经开始排卵(羽化后约10日左右)保幼激素的含量猛然下降。直至持续产卵达10次的雌虫(羽化后约25日)JH含量仍保持在比较平稳的状态。取食人工饲料者卵巢发育缓慢,羽化30日后不产卵个体的JH水平仍很低,仅及取食蚜虫组高峰的1/6。这一结果证实了JH对七星瓢虫雌成虫卵巢发育及排卵的调控,也指出了取食人工饲料的雌虫产卵率及产卵量明显偏低的重要原因。

在应用蜡测法的过程中肯定了JH浓度与大蜡螟蛾中胸背板保持的部分蛹皮面积之间的关系。

**关键词** 七星瓢虫 卵巢发育 保幼激素 蜡测定法

一些昆虫在成虫羽化后必需取食足够的食物方能促进生殖腺的发育并导致产卵繁殖,七星瓢虫 *Coccinella septempunctata* 也属此例。此种瓢虫的卵黄发生是其卵巢成熟的关键。在卵黄发生期由雌性成虫的脂肪体合成卵黄原蛋白,释放至血淋巴中被卵母细胞摄取并组成70—90%的卵黄蛋白,这一系列过程均由激素调控(龚和等,1980)。七星瓢虫在取食天然饲料——蚜虫后10天左右即开始产卵,取食人工饲料(猪肝、蔗糖5:2,重量比)则产卵前期延长、产卵率及产卵量均明显下降,主要原因被推断是人工饲料的质与量影响了脑神经分泌细胞及咽侧体的正常分泌活动,低水平的内源激素抑制了卵黄原蛋白的合成及释放,从而影响了卵巢的发育及卵母细胞的成熟,造成较多的雌性个体进入生殖滞育。

对昆虫不同发育阶段保幼激素(JH)的测定引起了广泛的重视和兴趣。Gilbert(1958)首先应用了对JH有特异性的蜡测法(Wax test),1961年他对几种鳞翅目昆虫的JH进行了测定,指出多种鳞翅目的雄蛾比雌蛾体内的JH含量要高得多。De Wilde等(1968)用同一方法对比了滞育期与非滞育期马铃薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata* (Say) 成虫血淋巴中JH的水平,指出滞育甲虫的JH含量明显偏低。利用长日照打破滞育后,JH的含量大增。Hsiao等(1977)首次在同一昆虫个体内用不同方法提取并生物测定JH及MH(蜕皮素)的含量。1978年Lanzrein等测定了蚌螭 *Nauphocta cinerea* 咽侧体的体积、活体及离体后的活性、血淋巴的JH滴度等与卵母细胞成熟间的相互关系。

本文在上述工作基础上,以大蜡螟 *Galleria mellonella* (L.) 为生测虫种,用蜡测法测

本文于1983年1月收到。

本项工作在钦俊德教授领导下进行。

定了七星瓢虫雌成虫卵巢发育各阶段中 JH 的含量。

## 材 料 和 方 法

### 一、虫源

1. 七星瓢虫系河南安阳县油菜地内第一代蛹,采集后在室内羽化而得的成虫,在 28℃ 全日光照下饲养,一部分喂以蚜虫,一部分喂以人工饲料。

2. 大蜡螟系得自中国农科院生防室,在 30℃ 温度下以蜜蜂巢脾饲养至化蛹。收集化蛹不超过 24 小时的蛹用于蜡测定。

### 二、提取

由于七星瓢虫的体液较少,我们从雌虫整体匀浆提取 JH,具体方法参考 De Wilde (1968) 的乙醚-乙醇混合液提取系统。各组样品根据需要用医用橄榄油稀释为不同浓度,每浓度取样 12.5 毫克于载玻片上,加入 12.5 毫克的低熔点石蜡,在 50℃ 左右熔化混匀成薄片,再将薄片切成等量的 25 份,每小片(约 1 毫克)用以包封一个蜡螟蛹的伤口。

### 三、生物测定

每一样品均处理 25 头蛹。手术前将蛹冷冻约半小时,在蛹的中胸背板蜕裂线中点,自后向前至前胸背板后沿切下约一平方毫米的表皮,再以样品、橄榄油、石蜡的混合小片覆盖于伤口上,用电热棒将石蜡缓熔后即可将伤口严密封住。动过手术的蛹置室温内 2 小时后放入 30℃ 的温箱中,6 日后镜检。此时有些蛹已羽化,多数剥开蛹皮后亦已成蛾。用毛笔将胸部鳞片搓洗掉,在双筒镜下观察伤口处的中胸背板,以是否保持棕色的蛹皮并呈现部分蜕裂线做为标志,判断有无 JH 的效应,如仅表现一项标志则视为中间型。25 头蛹中能使 50% 的蛾呈现正反应者,则该样品即含有 1 个蜡螟单位 (G. U.) 的保幼激素,再按稀释倍数推算出每克虫体所含的保幼激素的蜡螟单位 (G. U.) 数。保持的蛹皮按不同的几何图形计算其面积。

## 试 验 结 果

雌成虫卵巢发育不同阶段 JH 的测定 瓢虫分为两组,一组喂蚜虫,一组喂人工饲

表 1 七星瓢虫雌成虫卵巢不同发育阶段 JH 的提取

组 别	羽化天数	虫 数	饲 料	雌虫体重 (毫克)	提取后样品 重(毫克)	卵 巢 管 特 征
I	1	10	蚜虫	337.1	39.5	原 卵 区
II	4(3—5)	10	蚜虫	403.7	83.73	出现卵室,部分卵黄沉积
III	8(7—9)	10	蚜虫	512.4	102.1	普遍出现卵黄沉积,出现第二、三卵母细胞,个别卵母细胞已成熟
IV	10(9—11)	10	蚜虫	466.3	94.77	卵母细胞已成熟,均有第三卵母细胞,并开始排卵
V	23.5(22—25)	2	蚜虫	89.2	16.93	第一、二卵母细胞皆成熟,持续产卵达 10 次
VI	30	10	人工饲料	443.0	77.39	出现卵室,部分卵黄沉积,卵巢管增长缓慢

表 2 七星瓢虫雌成虫不同

组 别	I		II				III						
	100%	50%	100%	50%	25%	12.5%	100%	50%	25%	12.5%	6.25%	3.13%	1.57%
正 反 应 %	15	6	23	19	15	11	25	24	19	16	11	8	4
	62.5	25	92	82.6	68.2	52.4	100	100	82.6	69.6	50	42.1	21.1
负 反 应 %	9	18	0	4	7	10	0	0	4	7	11	11	15
	37.5	75	0	17.4	31.8	47.6	0	0	17.4	30.4	50	57.9	78.9
中 间 型 %	1	1	2	2	3	4	0	1	2	2	3	6	6
	4	4	8	8	12	16	0	4	8	8	12	24	24

\* 统计正、负反应百分数时除中间型不计。中间型的百分数指在 25 头蛹内所占的比例。

料。参考王宗舜等(1977)对七星瓢虫卵巢发育阶段的划分,对不同阶段瓢虫进行整体匀浆提取 JH 见表 1。

每一样品根据活性大小稀释成不同浓度分别进行生物测定,并设手术对照及橄榄油手术对照,其效应见表 2。

从稀释不同倍数的样品中,参照测  $LD_{50}$  的方法找出每克虫体所含保幼激素的 G. U. 数(见表 3 及图 1)与保幼激素类似物 ZR-512 (hydroprene) 对比,每 1G. U. 约等于 120 微微克的 ZR-512。

表 3 不同样品内 JH 的 G. U. 值\*

样 品 (12.5 毫克)	获得 1G.U. 的 样品浓度(A)	原液 G.U. 数	总样品重量(S) (毫克)	总样品 G.U. 数	虫体重量(M) (毫克)	每克虫体 G. U. 数
I	70.79	1.41	39.50	8.91	337.1(10♀)	26.47
II	9.54	10.48	83.73	140.40	403.7(10♀)	348.27
III	5.37	18.62	102.10	303.84	512.4(10♀)	593.29
IV	15.84	6.31	94.77	95.98	466.3(10♀)	204.71
V	12.6	7.94	16.93	21.40	89.2(2♀)	240.32
VI	30.90	3.24	77.39	40.11	443.0(10♀)	90.65

\* 每克虫体 G.U. 数 =  $2 \times \frac{100}{A} \cdot \frac{S}{12.5} \cdot \frac{1000}{M}$

A = 12.5 毫克样品中获得 1G. U. 保幼激素的百分浓度

S = 总样品重量(毫克)

M = 总虫体重量(毫克)

根据图 1 可以看出取食天然饲料——蚜虫的七星瓢虫羽化后 24 小时内 JH 的水平较低,以后逐渐上升至 8 日左右达到最高峰(即将排卵),10 日左右雌虫陆续产出第一批的卵(此时 JH 出现猛降)。其后在二周内持续产卵, JH 水平保持平稳状态。

取食代饲料的 10 个雌虫均属羽化 30 天内体重不减但不产卵者,解剖观察卵巢发育一般停留在第 II 阶段,多数出现卵室、少量卵黄沉积,个别出现第三卵母细胞,与取食蚜虫

发育阶段生物测定 JH 的效应\*

IV				V				VI			手术对照	橄榄油手术对照
100%	50%	25%	12.5%	100%	50%	25%	12.5%	100%	50%	25%	—	—
22	16	15	8	20	19	14	10	22	16	8	0	0
91.7	78.3	68.2	40	80	79.2	60.7	47.6	100	72.7	38.1	0	0
2	5	7	12	5	4	9	11	0	6	13	25	23
8.3	21.7	31.8	60	20	20.8	39.3	52.4	0	27.3	61.9	100	100
1	2	3	3	0	1	2	4	3	3	4	0	2
4	8	12	12	0	4	8	16	12	12	16	0	8

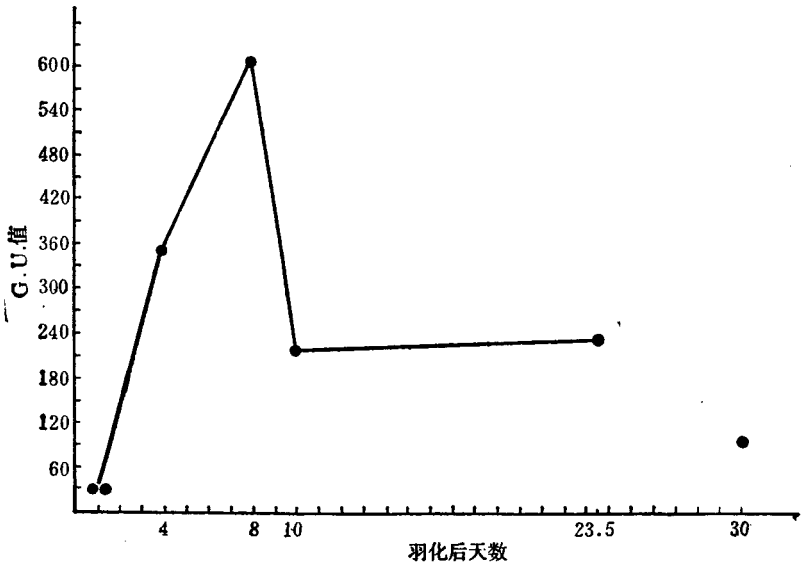


图1 七星瓢虫雌成虫羽化后卵巢不同发育阶段整体匀浆提取 JH 的 G. U. 值

● 食蚜组      ○ 人工饲料组

4 日左右者似这类雌虫体内 JH 上升缓慢, 30 日内只达 90.65 G. U.、而且根据卵巢发育情况分析, 不会出现 JH 的高峰这可能是取食该种人工饲料的七星瓢虫的产卵率及产卵量明显偏低的主要原因。

还观察到除 JH 达到一定水平出现保幼效应(大蜡螟蛾的中胸背板保留蛹皮的颜色及刻点)外, 在正反应的范围内蛹皮面积与样品的浓度有明显的相关性, 中间型的出现也与浓度有关。以样品 III 为例, 不同浓度的样品处理后, 大蜡螟蛾的中胸背板上出现形状及面积不同的蛹皮(见表 4 及图 2)。同时可以看出, 当样品浓度降低时, 中间型的百分比增加, 说明 JH 含量偏低时不足以保证出现全部的保幼特性而表现出中间型的增多。

表 4 蛹皮面积与 JH 浓度的关系

样品浓度(%)	1.57	3.13	6.25	12.5	25	50	100
G.U. 数/ 12.5毫克样品	0.29	0.58	1.16	2.33	4.65	9.3	18.6
正反应成虫数	4	8	11	16	19	24	25
平均蛹皮面积 (平方毫米)	0.14	0.63	1.61	2.96	3.92	4.84	5.53
蛹皮特点	蛹皮为极细的棒形, 蜕裂线不明显。(图2:b)	蛹皮多为细矩形或稍粗的棒形, 蜕化线短, 其上刻点不明显。	蛹皮多为倒置的三角形, 面积小, 底边窄, 蜕裂线短。(图2:c)	蛹皮三角形或呈矩形, 面积较大。(图2:d)	蛹皮呈多种形态, 多为不同宽度的X形。(图2:e)	部分个体的中胸背板全部为棕色, 多数为不同宽度的X形。	全部个体的中胸背板全部为棕色, 具明晰的蜕裂线, 可见其刻点。(图2:f)

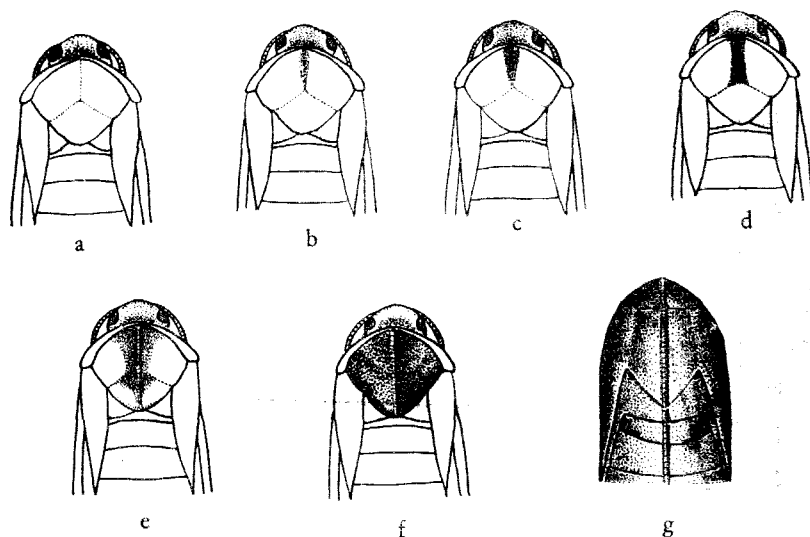


图 2 不同浓度 JH 处理后大蜡螟蛾保留不同面积的蛹皮

a. 正常成虫 b—f. 不同面积的蛹皮 g. 正常蛹

## 讨 论

本工作测定的结果说明七星瓢虫雌成虫体内 JH 的含量达到高峰时, 卵巢管内卵黄大量沉积、卵母细胞生长速度最快, 第一卵母细胞基本成熟, 此时排卵即将开始。但一经排出第一批卵, JH 水平即明显下降, 这一现象与 Lanzrein (1978) 对蜉蝣 *N. cinerea* 血淋巴中 JH 的测定是一致的。 *N. cinerea* 雌成虫排卵开始后, 咽侧体的体积, 活体及离体后合成 JH 的能力及血淋巴中 JH 的含量均明显下降。咽侧体体积的减小导致 JH 分泌量的降低, 持续产卵的雌虫咽侧体体积保持稳定, 因之 JH 的含量也相应平稳。

用蜡测法测定保幼激素的含量是可行的。以样品 III 来分析, 每克虫体的 JH 含量为 593.29 个 G. U., 超过 Gilbert (1961) 对天蚕蛾 *Hyalophora cecropia* 雌蛾的测定数值, 但低于一般昆虫血淋巴中 JH 的含量, 这可能与取材部位及提取方式有关。由于某些微

橄榄油被认为具有一定的保幼激素类似物的作用,本试验使用了较纯的医用橄榄油,并设手术橄榄油对照进行观察,证明这种橄榄油是可用的。Hsiao 等 (1977) 建议使用的液体石蜡比较经济当更可取。

本文以大蜡螟蛾中胸背板上保留蛹皮的颜色及蜕裂线的存在做为具有保幼效应的两项指标。只具一项者定为中间型。在呈正反应的螟蛾中发现不同浓度的 JH 导致了不同面积的蛹皮,并证实了两者之间的关系。Gilbert (1961) 曾将蛹皮面积的大小划分为四个等级,但未指出其与 JH 剂量的关系。本文在蜡测法测定 JH 的含量时注意到量的关系,指出一定面积的蛹皮表明一定剂量的 JH, 为 JH 的准定量测定提供了可能性。

### 参 考 文 献

- 王宗舜等 1977 七星瓢虫生殖的观察。昆虫学报 20(4):397—404。  
陈志辉等 1980 食料对于七星瓢虫取食和生殖的影响。昆虫学报 23(2):141—8。  
龚和等 1980 七星瓢虫的卵黄发生: 卵黄原蛋白的发生和取食代饲料的影响。昆虫学报 23(3):252—9。  
傅贻玲、陈志辉 1982 人工饲料某些成分对七星瓢虫产卵的影响。昆虫学报 25(3):335—8。  
Gilbert, L. I. and H. A. Schniederma. 1961 The content of juvenile hormone and lipid in Lepidoptera: sexual differences and developmental changes. *Gen. comp. Endocrin.* 1: 453—7.  
Hsiao, T. H. and C. Hsiao 1977 Simultaneous determination of molting and juvenile hormone titers of the greater wax moth. *J. Ins. physiol.* 23(1): 89—93.  
Lanzrein, B. et al. 1978 Correlation between haemolymph juvenile hormone titer, corpus allatum volume, and corpus allatum *in vivo* and *in vitro* activity during oocyte maturation in a cockroach (*Nau-phoeta cinerea*). *Gen. comp. Endocrin.* 36 (3): 339—45.  
Schniederma H. A. and L. I. Gilbert 1958 Substances with juvenile hormone activity in Crustacea and other invertebrates. *Biol. Bull.* 115 (3): 530—5.  
Wilde De, J. et al. 1968 Juvenile hormone titer in the haemolymph as a function of photoperiodic treatment in the adult Colorado beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say). *Proc. K. Ned. Akad Wet.* (c) 71: 321—6.

THE CONCENTRATION OF JUVENILE HORMONE IN FEMALE  
ADULTS OF *COCCINELLA SEPTEMPUNCTATA*  
DURING OVARIAN DEVELOPMENT

FU YI-LING CHEN ZHI-HUI

(*Institute of Zoology, Academia Sinica*)

The concentration of juvenile hormone(JH) in the female adults of the lady beetle *Coccinella septempunctata* during ovarian development has been studied with the bioassay method using the greater wax moth. The results are as follows:

1. The body of female lady beetle reared with aphids had the highest JH concentration (593.3 G. U.) on the 8th day after emergence. At this time, large amount of yolk protein was deposited in the first two oocytes and the third one appeared. Two days later oviposition started, the JH content declined sharply (204.7 G. U.) and then it was maintained at a more or less constant level during the egg-laying period.

2. The JH concentration in the body of the female beetle fed with artificial diet (liver homogenate and cane sugar in 5:2 w/w) was much lower and the oocytes remained immature and on the 30<sup>th</sup> day after emergence the JH in the body was 90.7 G. U. This is the major cause of the low oviposition rate and less eggs laid in the female lady beetles reared on artificial diet.

3. In the wax test, the area of pupal cuticle regenerated on the mesothoracic tergite of adult is related to the JH content.

**Key words** *Coccinella septempunctata*—ovarian development—juvenile hormone—wax test