

# 七星瓢虫脂肪体的核酸代谢

吴秋雁 关雪辰

(中国科学院动物研究所)

**摘要** 脂肪体是七星瓢虫卵黄原蛋白合成的主要场所。本文用微量荧光法和细胞光度法测定成虫期脂肪体核酸含量的变化。结果表明,雌虫在成虫期第5天时,脂肪体的RNA/DNA比值出现高峰,雌虫在第9天产卵,说明当脂肪体合成卵黄原蛋白之前,脂肪体细胞的RNA合成十分活跃,这可促使卵黄原蛋白合成速率加快,几天后雌虫即能产出成熟卵块。雄虫脂肪体的RNA/DNA比值高峰在第7天出现,但其比值只有雌虫的一半。取食代饲料的雌虫,脂肪体RNA/DNA的比值一直较低,直到第24天比值才有所提高,但与正常取食蚜虫的雌虫个体的高峰值相比相差也约一半。这种雌虫一直未能产卵,说明取食代饲料的雌虫不产卵的原因在于脂肪体中核酸代谢的异常。取食代饲料一直未能产卵的雌虫,经用保幼激素类似物ZR-512处理;3天后脂肪体的RNA平均值明显增高。说明ZR-512对瓢虫脂肪体RNA合成有促进作用。

## 引 言

七星瓢虫是目前我国华北地区生物防治中用来解决棉苗蚜害的重要捕食性天敌。为了解决七星瓢虫的大量繁殖问题,我们除开展了成虫代饲料和成虫期卵黄发生的研究外,还进行了成虫期脂肪体核酸代谢的研究。

近年来对七星瓢虫卵黄原蛋白(vitellogenin)的研究指出,这种蛋白是在卵黄发生期由雌虫的脂肪体合成。它在脂肪体内的合成、释放以及为卵母细胞摄取的过程均受激素的调节。激素对这种蛋白合成的调节主要是通过对核酸代谢的作用所产生。因此,对成虫脂肪体核酸代谢的研究,可以进一步阐明其生殖代谢规律并揭示取食代饲料的瓢虫产卵少的内在原因,为改进代饲料和提高产卵率提供依据。

## 材 料 和 方 法

5月间从野外采集七星瓢虫的老熟幼虫和蛹,在实验室内羽化后,放入23°—26°C、相对湿度60—80%、基本全日光照的条件下饲养,分别喂以蚜虫和鲜猪肝匀浆与糖、蜜(5:1:1)配制的代饲料。

激素处理是用保幼激素类似物ZR-512(乙基-3,7,11-三甲基-2,4-十二碳二烯酯)点滴羽化后取食代饲料11天的雌虫,剂量为每头瓢虫100微克/微升。

(一)为适应七星瓢虫个体小、脂肪体量少和个体发育差异大的特点,采用了Boer(1975)的微量荧光法逐头测定瓢虫脂肪体的核酸含量。这个方法是利用非啶溴红(Ethidium bromide)作为荧光探针测定核酸,在一定条件下非啶溴红与双股核酸分子的结

本文于1980年1月收到。

本工作在钦俊德教授指导下和杜云静同志帮助下完成,特此致谢。

合,发生在特定的插入位点上,这些插入位点是双股多核苷酸链配对碱基区的特异结构。因此只能测出结构完整的双股核酸分子。对于单链核酸、寡核苷酸和单核苷酸均不能检出。具体操作如下:

### 1. 试剂与溶液

#### 试剂:

- (1) 非啉溴红(2,7-二氨基-9-乙基-10-苯基非啉溴盐),英国 B. D. H.
- (2) 广谱蛋白酶(pronase E), 德国 Merck.
- (3) 脱氧核糖核酸(分子量  $1 \times 10^7 - 1.2 \times 10^7$  道尔顿),德国 Merck。
- (4) 核糖核酸酶,英国 Seravac 实验室。
- (5) 几种无机盐(分析纯),北京化工厂。

#### 溶液:

(1) PBS 液:  $\text{CaCl}_2$  0.1 克,  $\text{KCl}$  0.2 克,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.2 克,  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  0.1 克,  $\text{NaCl}$  8.0 克,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  1.15 克。溶于 1 升水中,用  $\text{NaOH}$  溶液将 pH 调至 7.5。

(2) DNA 标准母液(25 微克/毫升),使用前以 PBS 液稀释为 2.5 毫微克/毫升的 DNA 标准液。

(3) 含 1 酶 PBS 液: 为含有 0.1 毫克/毫升广谱蛋白酶的 PBS 液。

(4) 含 2 酶 PBS 液: 为含有 0.1 毫克/毫升广谱蛋白酶和 50 微克/毫升核糖核酸酶的 PBS 液。

(5) 50 微克/毫升的非啉溴红液(用 PBS 液配制)。

### 2. 试验操作

解剖瓢虫,用少许生理盐水冲洗腹腔的血淋巴,用小镊子小心摘取一定量(0.5—2 毫克)脂肪体,放入小玻璃匀浆管中,称重后按 1 毫克脂肪体加 100 微升缓冲液的比例加入 PBS 液。然后在冰浴中匀浆 1—2 分钟,造成浓度为 50 微克脂肪体/5 微升的匀浆。按表 1 配制系列反应液。

所有反应液置于  $37^\circ\text{C}$  恒温水浴中,保温 30 分钟。因非啉溴红对核糖核酸酶的作用

表 1 反应液配制表

反应液	名 称	组 成	体积(微升)
A	标准液	2.5 毫微克/毫升 DNA 液	50
		含 1 酶 PBS 液	145
		非啉溴红液	5
B	空白对照	含 1 酶 PBS 液	195
		非啉溴红液	5
C	零点对照	含 1 酶 PBS 液	200
D	样品 (DNA + RNA)	含 1 酶 PBS 液	190
		匀浆液	5
		非啉溴红液	5
E	样品 (DNA)	含 2 酶 PBS 液	190
		匀浆液	5
		非啉溴红液	5
F	样品对照	含 2 酶 PBS 液 匀浆液	195 5

有轻微干扰,必须在保温之后才加入菲啉溴红液。反应液待室温冷却后测定。

### 3. 测定和计算

测定仪器为意大利 Optica 115 型荧光分光光度仪。所选激发波长为 344 毫微米,发射波长为 599 毫微米。狭缝均为 3.00 毫米。仪器敏感度为 50。光源为碘灯。用微量石英比色杯盛满反应液,所有测定用同一比色杯进行。核酸含量按下列公式计算:

(1) 计算 DNA 的公式:

$$A_{\text{DNA}} = \frac{A_{\text{标准}}(F_E - F_B - F_F)}{F_A - F_B}$$

(2) 计算 RNA 公式:

$$A_{\text{RNA}} = \frac{A_{\text{标准}}(F_D - F_E)}{0.46(F_A - F_B)}$$

上式中  $A_{\text{DNA}}$  为样品中 DNA 的含量(毫微克)

$A_{\text{RNA}}$  为样品中 RNA 的含量(毫微克)

$A_{\text{标准}}$  为反应液 A 的 DNA 含量(毫微克)

$F$  为荧光强度(单位)

这一方法能测定核酸含量至毫微克 (ng) 水平。

## 结 果

### (一) 雌虫体重的比较

取食蚜虫和取食代饲料的雌虫,在体重上显示出较大的差异。我们用灵敏度为十万分之一克的天秤,称量取食蚜虫和取食代饲料的雌虫共 60 头,结果见图 1。可以看出取食蚜虫的个体一般比取食代饲料的个体重。雌虫羽化后体重的增加,主要是由于体内脂肪体和卵巢中卵黄的积累,而这又和雌虫的取食量密切相关。瓢虫喜食蚜虫而不习惯吃代饲料。这可能是造成二者体重差异的原因。

### (二) 雌雄虫脂肪体核酸代谢的特点

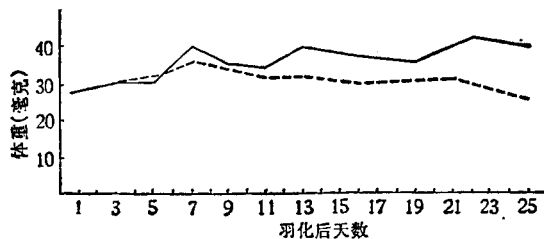


图 1 喂不同饲料的雌虫体重的变化  
—— 取食蚜虫 —— 取食代饲料

瓢虫成虫期的脂肪体呈叶片状,集中分布于腹腔。随着发育天数的增长,脂肪体由浅黄色变为桔黄色。含量则因个体差异和不同发育阶段有较大变化。我们按成虫期不同的发育天数,用微量荧光法测定 66 头瓢虫脂肪体的核酸(包括 DNA 和 RNA)含量。结果表明,雌虫在第 5 天时,脂肪体的 RNA/DNA 比值出现高峰。雌虫在第 9 天产卵。说明当脂肪体合成卵黄原蛋白前,脂肪体细胞的 RNA 合成十分活跃,从而加快脂肪体合成卵

黄原蛋白的速率,几天之后即能产出成熟的卵块。雄虫脂肪体的 RNA/DNA 比值高峰在第 7 天时出现,但其高峰比值却只有雌虫的一半。从表 2 和图 2 还可看出,雌雄虫的脂肪体除 RNA 合成高峰出现的时间不同和 RNA/DNA 比值的明显差异以外;在整个成虫期,雄虫脂肪体的 RNA/DNA 比值都比雌虫的低。这就进一步说明,雌虫的脂肪体在卵巢发育期间是有特殊作用的,它与卵黄原蛋白的合成有密切的关系。

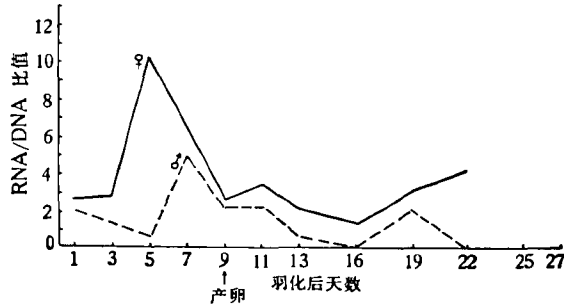


图 2 雌雄虫脂肪体 RNA 与 DNA 比值变化的比较

表 2 七星瓢虫成虫期脂肪体的核酸含量

天 数	♀					♂				
	DNA 毫克/50 微克 脂肪体		RNA 毫克/50 微克 脂肪体		RNA/ DNA 比值	DNA 毫克/50 微克 脂肪体		RNA 毫克/50 微克 脂肪体		RNA/ DNA 比值
	范 围	平均值	范 围	平均值		范 围	平均值	范 围	平均值	
1	7.2—19.8	14.3	22.9—56.3	37.9	2.6	29.5—43.9	35.5	73.4—106.2	72.3	2.0
3	15.0—38.0	29.5	77.0—86.5	81.4	2.7	19.3—26.6	23.0	17.1—45.7	30.5	1.3
5	9.8—16.6	12.7	100.0—163.8	127.6	10.0	36.4—40.0	38.5	0—68.1	22.7	0.5
7	11.3—35.8	19.5	50.0—212.5	127.8	6.5	10.5—31.1	22.7	52.5—171.3	110.4	4.8
9	8.8—28.5	18.3	20.6—85.3	49.0	2.6	7.0—34.0	22.4	30.9—72.7	49.7	2.2
11	11.1—32.7	24.6	51.4—142.8	85.1	3.4	0—11.1	7.4	0—52.5	17.5	2.3
13	39.4—53.7	45.2	64.4—149.4	98.1	2.1	23.5—46.5	37.8	0—50.0	25.8	0.6
16	25.1—47.4	32.7	37.5—55.0	43.3	1.3	7.9—9.9	8.5	0—0	0	0
19	25.0—58.6	43.7	110.6—163.6	131.8	3.0	0—9.9	6.6	0—43.5	14.5	2.1
22	3.0—21.8	9.7	4.4—91.1	38.9	4.0	26.5—42.9	32.3	0—0	0	0

(三) 喂不同饲料的雌虫体内脂肪体核酸代谢的比较

一般情况下,取食代饲料的雌虫只有一部分个体能够产卵,而且产卵前期延长。从表 3 和图 3 可以看到,在成虫期的大部分时间里,取食代饲料的雌虫脂肪体的 RNA/DNA 比值一直较低。由于缺少卵黄原蛋白的合成,这种雌虫的卵巢中不能充分沉积卵黄;直到第 24 天时, RNA/DNA 比值才有所增高,但与取食蚜虫的雌虫高峰比值相比仍相差一半。因此卵黄虽部分沉积,但仍未能产卵,说明取食代饲料的雌虫不产卵的原因在于脂肪体中核酸代谢的异常。

(四) 保幼激素类似物处理取食代饲料雌虫后脂肪体核酸代谢的改变。

由于取食代饲料的雌虫不易产卵,在羽化 11 天后,我们用保幼激素类似物 ZR 512

表 3 取食代饲料雌虫脂肪体的核酸含量比较

天 数	正 常 对 照					激 素 处 理				
	DNA 毫微克/50 微克 脂肪体		RNA 毫微克/50 微克 脂肪体		RNA/ DNA 比值	DNA 毫微克/50 微克 脂肪体		RNA 毫微克/50 微克 脂肪体		RNA/ DNA 比值
	范 围	平均值	范 围	平均值		范 围	平均值	范 围	平均值	
1	7.2—19.8	14.3	22.9—56.3	37.9	2.6					
5	5.7—45.2	22.6	35.4—91.6	56.2	2.4					
8	45.5—65.0	52.4	20.0—47.0	35.1	0.7					
11	38.4—44.5	40.6	0—41.3	16.8	0.4					
14	6.9—18.9	12.4	0—62.5	20.8	1.6	30.6—53.0	43.5	25.0—70.0	48.3	1.1
17	10.0—14.6	12.1	0—37.5	12.5	1.0	5.6—22.2	15.7	30.5—85.4	60.9	3.9
21	17.6—35.3	23.5	0—62.5	20.8	0.8	25.2—36.7	29.6	164.9—185.6	178.0	6.0
24	8.3—28.9	16.2	56.3—130.0	84.2	5.2					
30	19.2—43.0	32.1	16.5—72.2	42.2	1.3					

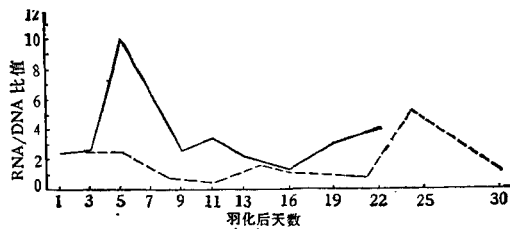


图 3 喂不同饲料雌虫脂肪体 RNA 与 DNA 比值的比较  
—— 取食蚜虫 —— 取食代饲料

(剂量每头 100 微克/微升) 点滴雌虫腹部背面, 3 天之后测定脂肪体核酸含量的变化 (见表 4 和图 4)。经激素处理后, 雌虫体内脂肪体的 RNA 平均值明显增高, RNA/DNA 最高比值提前出现, 表明保幼激素类似物 ZR-512 对脂肪体中 RNA 的合成有促进作用。同时表 4 中的数据说明取食代饲料的雌虫, 约有 1/3 个体的脂肪体内无 RNA 的合成。激素处理后, 这种无 RNA 合成的个体比例下降。同样说明激素有调节脂肪体 RNA 合成的功能。

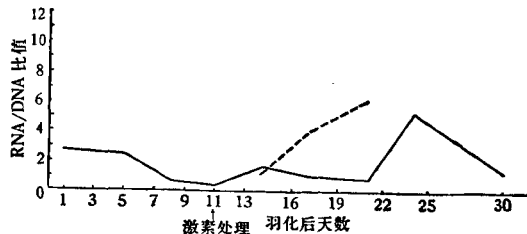


图 4 保幼激素类似物处理取食代饲料雌虫后脂肪体 RNA 与 DNA 比值的比较  
—— 正常 —— 激素处理

(五) 成虫期脂肪体的核酸代谢和个体发育的关系

我们在测定 160 头瓢虫成虫期脂肪体核酸含量的变化中发现, 部分个体的脂肪体既

无 DNA 也无 RNA 的合成。这种个体约占 15% (见表 5), 在雄虫中占的比例更大。据推测可能是瓢虫的滞育个体; 这种个体的雌虫卵巢一直不能发育, 它们当中有些是正常取食蚜虫一周至 22 天的个体, 这种个体在体重和活动方面与正常的个体差不多, 从而不易区别。另一部分雌虫虽然取食蚜虫约达 20 天, 卵巢中也有部分卵黄沉积, 但卵并没有成熟, 雌虫也不产卵, 致使产卵前期特别延长, 此时其脂肪体的核酸含量也很低 (见表 2)。

表 4 取食代饲料雌虫的脂肪体无 RNA 合成的百分数

	测定头数	无 RNA 合成虫数 (头)	无 RNA 合成百分比 (%)
对照	41	13	31
激素处理	22	2	9

表 5 脂肪体中无核酸合成的个体

	测定数 (头)	无核酸合成的数 (头)	百分比 (%)
♀	85	8	10
♂	75	16	21

## 讨 论

脂肪体是昆虫生长, 变态和生殖等生理机能中间代谢的主要组织。它能贮存营养物质, 能为昆虫生命的周期活动提供各种代谢产物, 同时还有解毒作用。近年来, 有关脂肪体代谢方面的研究不少, 但有关脂肪体核酸代谢的研究却不多。我们针对瓢虫的人工饲料、生殖滞育和激素调节等问题, 测定瓢虫成虫期脂肪体中核酸含量的变化, 为解决瓢虫大量繁殖的问题提供依据。

已证明脂肪体是七星瓢虫卵黄原蛋白合成的场所 (龚和等, 1980)。血淋巴是卵黄原蛋白的储存库。成虫羽化后 6—7 天, 血淋巴中出现卵黄原蛋白, 这与成虫羽化后第 5 天, 脂肪体 RNA/DNA 的比值出现高峰是吻合的。Pembrick (1970) 在研究  $^3\text{H}$ -尿嘧啶核苷对黄粉虫雌虫脂肪体 RNA 的参入时曾指出, 在交配或未交配的雌虫, 脂肪体 RNA 的合成均随卵巢发育和蛋白合成的周期性而进行。卵黄开始沉积时, 脂肪体细胞核中  $^3\text{H}$ -尿嘧啶核苷的参入明显增高, 说明卵黄原蛋白的合成同时伴随 RNA 的合成。

Engelman (1974) 在研究蜚蠊生殖活动期脂肪体 RNA 对卵黄原蛋白合成的促进作用时发现, 保幼激素能影响脂肪体中特异 mRNA 的合成。Fong 与 Fuchs (1976) 也发现, 蜕皮素对伊蚊脂肪体 RNA 的合成有特异作用, 它能直接刺激离体细胞核 RNA 的合成, 合成的 RNA 大部分是 rRNA, 并有少量的 mRNA。我们用保幼激素类似物 ZR-512 处理瓢虫后, 其 RNA/DNA 比值明显递增, 在瓢虫脂肪体中伴随卵黄原蛋白合成的 RNA 的合成可能包括 rRNA 在内, 即使没有特异 mRNA 的转录, 我们认为这种细胞核内可能存在由 DNA 转录 rRNA 的过程, 说明了激素对卵黄原蛋白合成的调节是在转录水平上进行的。

七星瓢虫的滞育是以雌虫的生殖腺停止发育为特征的, 故称为生殖滞育。自然情况下的七星瓢虫种群中, 生殖滞育的个体约占 20% 左右。在脂肪体核酸的测定中发现约有 15% 个体的脂肪体组织匀浆测不出双股链的核酸含量, 这可能与滞育有关。因为昆虫滞育期间, 一般的代谢活性很低, 有些甚至完全停止。这种个体的卵巢不能发育, 其脂肪体

核酸的生物合成处于不活动状态。在完全滞育的个体中脂肪体细胞中可能含有核苷酸、寡核苷酸甚至单链的核苷酸片段,但无双股链核苷酸大分子的合成。另一种情况则是雌虫卵巢发育到一定阶段,但卵未能成熟,在这个过程中脂肪体的双股链核酸含量下降,这些可能是兼性滞育的个体。

取食代饲料的雌虫产卵较少,卵巢发育缓慢,在未能产卵的个体中积累了大量的脂肪体,而这些脂肪体的 RNA/DNA 比值一直较低,血淋巴中卵黄原蛋白含量也低。脂肪体的 RNA/DNA 比值到成虫羽化后第 24 天才有所增高,但雌虫仍然未能产卵,这种由于代谢缓慢造成的产卵前期延长可能是营养不足引起的。营养不足首先引起虫体内激素分泌量的不足,从而导致代谢及卵巢发育缓慢。有人认为,七星瓢虫滞育的遗传性是由多基因的遗传规律决定的,它们的生殖滞育参差不齐。我们在测定 200 多头瓢虫的脂肪体核酸含量变化的过程中发现其数值的变化确实是多种多样的。

有关昆虫雌雄两性脂肪体代谢性质的差异问题,瓢虫雌雄两性脂肪体的核酸代谢是有不同特征的。什么原因引起,目前尚有争议。有人认为这是由于基因组的雌雄二态现象。有人则主张雌虫的脂肪体除受保幼激素的作用外,还受卵巢分泌激素的调节;第三种看法却认为是由于雌雄虫咽侧体激素调节方式不同的缘故。究竟如何尚待进一步探讨。

### 参 考 文 献

- 钦俊德 1978 谈谈七星瓢虫的滞育问题。昆虫知识 1:28—30;2:49—50。
- 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
- Boer G. J. 1975 A simplified microassay of DNA and RNA using ethidium bromide. *Anal. Biochem.* 65: 225—31.
- Butterworth F. M. et al., 1965 Adipose tissue of *Drosophila melanogaster* I. An experimental study of larval fat body. *J. Exp. Zool.* 158: 141—53.
- Couple P. et al., 1979 Juvenile hormone controlled vitellogenin synthesis in *Locusta migratoria* fat body: Cytological development. *J. Insect Physiol.* 25(4): 327—38.
- Dortland J. F. et al., 1978 Protein synthesis and storage in the fat body of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Insect Biochem.* 8: 93—8.
- Dutkowski A. B. et al., 1974 Biochemical studies of the fat body of *Galleria mellonella* during metamorphosis. *Acta Ent. Bohemoslov.* 71(4): 222—32.
- Engelman F. 1974 Juvenile hormone induction of the insect yolk protein precursor. *Am. Zool.* 14: 1195—206.
- Engelman F. et al., 1975 Ribosome membrane association in fat body tissues from reproductively active females of *Leucophaea maderae*. *Exp. Cell Res.* 92: 102—10.
- Fong W. F. et al., 1976 The differential effect of RNA synthesis inhibitors on ecdysterone induced ovarian development in mosquitoes *J. Insect Physiol.* 22: 1493—9.
- Karsten U. et al., 1972 Determination of DNA and RNA in homogenized cells and tissues by surface fluorometry. *Anal. Biochem.* 46(1): 135—48.
- Pembrick S. M. et al., 1970 RNA synthesis of the fat body of adult *Tenebrio molitor*. *J. Insect Physiol.* 16(6): 1171—7.
- Price G. M. 1973 Protein and nucleic acid metabolism in insect fat body. *Biol. Rev.* 48: 333—75.
- Rizki T. M. 1978 Fat body in: *The Genetics and Biology of Drosophila*, vol 2B.

## THE NUCLEIC ACID METABOLISM IN THE FAT BODY OF COCCINELLA SEPTEMPUNCTATA L.

WU TSIU-NGUN      GUAN XUE-CHEN

(*Institute of Zoology, Academia Sinica*)

The variation of nucleic acid concentrations in the fat body of adult *Coccinella septempunctata* L. was measured with microfluorometry. The results are as follows:

(1) The RNA/DNA ratio of the female fat body reached the peak on the 5th day after emergence and oviposition starts on the 9th day. The result indicated that synthesis of RNAs in the fat body was very active before the synthesis of yolk proteins.

(2) The highest RNA/DNA ratio of male fat body reached on the 7th day, but it is only half the ratio in the female fat body.

(3) When the adults were fed with artificial diet, the RNA/DNA ratio of the female fat body is low. It only increased on the 24th day. The ratio arose apparently three days after the treatment with juvenile hormone analogue ZR-512, which promoted RNA synthesis in the fat body.