

昆虫滞育相关激素调节的研究进展*

徐晶晶, 陈斌, 郝友进, 司凤玲, 何正波

(重庆师范大学 生命科学学院 昆虫与分子生物学研究所, 重庆 401331)

摘要:昆虫的生长发育离不开激素的调节。滞育作为昆虫特殊的发育状态,其特征是代谢活动显著降低,发育停滞。在滞育发育过程中,各类激素通常相互协调形成网络,发挥着重要的调节作用。在神经内分泌系统中,由神经细胞分泌的神经肽类激素通常作为上游调控激素,通过调节下游激素的合成和分泌从而影响昆虫的滞育发育;蜕皮激素和保幼激素作为下游激素参与到神经肽类激素的调控网络中。目前已克隆得到滞育激素-性信息素合成激活肽和促前胸腺激素的基因,并对二者在不同滞育型昆虫中的调节作用进行了深入研究。此外,激素受体的研究将为解释激素之间的相互作用提供重要依据;而通过滞育昆虫体内激素水平的调节将为有害昆虫生物防治提供新的方法。

关键词:昆虫;滞育;激素调节;神经肽类激素;保幼激素;蜕皮激素

中图分类号:Q965

文献标志码:A

文章编号:1672-6693(2012)04-0029-05

昆虫是地球上所有生物中种类及数量最多、最繁盛的动物群体。目前已发现全世界有一百多万种昆虫,约占动物界已知种类的2/3~3/4。昆虫属于变温动物,其生命活动受到周围环境条件的制约,极端的高温或低温将影响昆虫个体或种群的正常生命活动。在漫长的进化过程中,昆虫最终选择了滞育来度过极端不良的环境,使种群得到延续^[1]。

滞育(Diapause)一词由来已久,早在1883年Wheeler使用滞育这一术语指蚱蜢(*Oxya chinensis*)胚胎发育中头部向着后极而保存平衡的特定阶段。Heneguy在1904年给予了滞育一种新的含义,用来描述家蚕(*Bombyx mori*)和红腹灯蛾(*Spilarctia subcarnea*)幼虫生长发育停滞的生命现象。Denlinger则指出,昆虫滞育是遗传和环境共同作用,引起昆虫体内一系列基因和蛋白质编码过程的改变,从而导致昆虫生长、发育和繁殖停滞的一种生命现象;也是昆虫抵御不良环境、维持种和个体生存、延续种族发展的重要生态对策;滞育的主要特征是代谢活动显著降低,发育停滞^[2-4]。徐卫华将滞育跟休眠和静止从本质上做了区分,认为滞育由昆虫内在的、中央的调节指令发出,使原来的直接发育变态改

变为选择性的滞育程序的生理学过程。具体表现为滞育的开始通常早于不利环境的到来,而滞育的结束和不利环境的结束往往不一致^[5]。

昆虫的发育变态主要是由保幼激素(Juvenile hormone, JH)和蜕皮激素(Ecdysteroids, Ecd)及其信号传导途径共同调控, Ecd与受体复合物结合后,级联启动激素受体和一系列转录因子的表达,这些转录因子进一步启动大量蜕皮相关基因的表达^[6]。昆虫滞育研究一直备受瞩目,为了从分子水平上阐明滞育的机理,近些年来国内外科学家做了大量的研究工作;本文对此进行了总结,以便为进一步深入研究昆虫滞育提供参考。

1 神经肽类激素对滞育的调节

昆虫神经肽是由神经分泌细胞产生的一类小分子化合物,一般由几个到十几个氨基酸组成,绝大部分昆虫神经肽在特异性神经分泌细胞中表达。昆虫体内的神经肽含量很低,但它们在昆虫的代谢、发育、生殖、节律、滞育、行为和认知等方面都起到了重要的调节作用。

其中与滞育相关的神经肽激素主要有滞育激

* 收稿日期:2011-12-18 修回日期:2012-01-08 网络出版时间:2012-07-04 11:15:00

资助项目:国家自然科学基金(No. 30870340);重庆市教委科学技术研究项目(No. KJ100620);重庆市自然科学基金(No. CSTC2008BB1365)

作者简介:徐晶晶,女,硕士研究生,研究方向为昆虫分子生物学;通讯作者:陈斌, E-mail: c_bin@hotmail.com

网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20120704.1115.201204.29_005.html

素-性信息素合成激活肽(Diapause hormone-pheromone biosynthesis activating neuro peptide, DH-PBAN)和促前胸腺激素(Prothoracicotropic hormone, PTTH)。

1.1 DH-PBAN

滞育激素(Diapause hormone, DH)最早的发现可源于1957年。当时 Hasegawa 从 15 000 个将产滞育卵的家蚕母体蛹期的食道下神经-脑复合物中首先提取出滞育活性物质,命名为 DH^[7],它可以诱导家蚕进入卵滞育。DH 和性信息素合成激活肽(Pheromone biosynthesis activating neuro peptide, PBAN)均在食道下神经节(Suboesophageal ganglion, SG)合成并分泌,由 *DH-PBAN* 基因共同编码,其 cDNA 可编码 1 个多蛋白前体,包括 DH、PBAN 和其它 3 个神经肽(α 、 β 和 γ)^[8]。

徐卫华等人以 *DH-PBAN* cDNA 为探针,从家蚕基因库中筛选并克隆了 *DH-PBAN* 基因。该基因长约 8 kb,包含了 6 个外显子和 5 个内含子,其中第一和第二个外显子分别编码 DH 和信号肽,编码 PBAN 的序列在第四和第五个外显子的位置上。5' 端上游含有一个与黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)hsp23 Ecd 效应元件相似的序列和一个富含 AT 的 10 个核苷酸的同源结合核心序列。在该基因的 5' 端上游,存在典型的 TATA 盒(-46)和 CAAT 盒(-90),在 3' 端下游有转录终止信号序列 AATAAA。Southern 杂交分析表明此基因在家蚕体内为单一拷贝^[9]。DH-PBAN 在幼虫期的合成与分泌可能延长幼虫的取食时间,促使幼虫摄取更多的能量为滞育的发生做准备。

目前为止,*DH-PBAN* 基因已经在鳞翅目(Lepidoptera)昆虫中得到克隆,如烟实夜蛾(*Heliothis assulta*)^[10]、甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua*)^[8]、烟芽夜蛾(*Heliothis virescens*)^[11]、玉米夜蛾(*Helicoverpa zea*)^[12]等。

DH 主要的靶标器官是卵巢,在家蚕研究中发现,DH 可以诱导家蚕进入卵滞育。海藻糖酶是 DH 调控代谢过程中的关键酶,DH 在卵巢发育的重要时期,通过与滤泡细胞膜上的受体结合,提高了海藻糖酶的活性,使血液中的海藻糖转化成葡萄糖,葡萄糖进入卵母细胞进一步合成糖原从而诱导卵滞育的发生。当 DH 诱导海藻糖酶的活性增加,滞育卵随之增加。进一步的研究表明,将 DH 注射进除

去 SG 的蛹体,卵巢海藻糖酶 mRNA 增加 7 倍,不除 SG 的蛹海藻糖酶 mRNA 仅增加 3 倍^[13]。

此外,DH 还可通过调节卵巢和滞育卵内 20-羟基 Ecd 的生成量来控制滞育卵与非滞育卵的形成。固醇是卵巢和成熟卵中 20-羟基 Ecd 合成的起始物,家蚕自身不能合成固醇,必须从食物中摄取,再经血液运送到各组织。20-羟基 Ecd 在滞育卵中的含量很低,非滞育卵中的含量很高,与蛹期滞育激素的分泌正好相反。咽下神经节的摘除促进了卵巢固醇的积累,同时也促进了卵巢 Ecd 的生成,导致了非滞育卵的发生。

最近研究发现在不同滞育型昆虫中 DH 的作用不同。在烟蚜夜蛾和棉铃虫蛹滞育发育过程中,DH 不是诱导滞育而是打破滞育^[11,14],且在滞育期的表达是下调的,DH 受体定位在前胸腺(Prothoracic gland, PG)上,DH 在昆虫体内和体外都能激活 PG 合成 Ecd,Ecd 直接引发打破滞育^[5]。

果蝇中存在 DH-like 肽,由 *pyrokinin* 基因^[15-17]和 *hugin* 基因编码,且基因的表达丰度很低,其功能未知。在果蝇微弱的滞育现象中,DH-like 肽是否与滞育相关,目前的研究还未见报道。

1.2 PTTH

1947 年,William 发现昆虫脑部分泌一种大脑调节激素作用于 PG,使其分泌 Ecd,此激素即为 PTTH。Ishizaki 等人在 1982 年从超过 200 万个家蚕的脑中纯化出 PTTH,将其中 30 kD 的成分正式命名为 PTTH^[18]。*PTTH* cDNA 从 5' 端依次编码信号肽、2 kD 肽、6 kD 肽、PTTH 亚基。各肽段之间以 2~3 个碱性氨基酸相连接,是翻译后蛋白水解酶的作用部位。因而,PTTH 首先在细胞内翻译为一个多蛋白前体,即 prepro-PTTH,经蛋白水解酶修饰后,释放出有活性 PTTH^[19]。prepro-PTTH 降解产生的小分子肽又可参与咽侧体细胞中调节保幼激素的合成。PTTH 蛋白序列在不同种昆虫中的保守性较低,双翅目与鳞翅目昆虫 PTTH 基因编码的前体肽 N 端几乎没有同源性,C 端只在一物种中具有较高的同源性。

在鳞翅目昆虫中已克隆出了大量的 PTTH 基因,包括烟芽夜蛾^[11]、玉米夜蛾^[12]、家蚕^[18]、棉铃虫(*Helicoverpa armigera*)^[20]等。

PTTH 作为上级调控激素并非直接对滞育进行调节,它是通过调节靶器官 PG 合成和分泌 Ecd

来完成的。在蛹滞育型昆虫中,由于缺乏足够的PTTH来刺激PG合成Ecd,从而导致昆虫蛹滞育的发生。在烟蚜夜蛾和棉铃虫中发现,PTTH基因的表达会随着滞育发育的进行而上调或下调。滞育期蛹中PTTH mRNA一直保持较低的表达水平,在非滞育蛹中却保持很高的表达^[12];滞育解除过程中PTTH mRNA的表达开始恢复到较高水平,当滞育解除后PTTH mRNA几乎与非滞育蛹的含量相当。Mizoguchi等研究发现血淋巴中PTTH的含量与Ecd的含量呈现显著的相关性^[21]。同时,Ecd能增强PTTH启动子的转录活性且具有浓度依赖性。

2 JH和Ecd对滞育的调节

JH和Ecd是调控昆虫发育和变态的两种最为重要的昆虫激素。

2.1 JH的合成及调节

JH是多种倍半萜类化合物的总称,在咽侧体(Corpora allatum,CA)内合成,咽侧体内保幼激素的分泌活性受到咽侧体活化激素(Allatotropin,AT)和咽侧体抑制激素(Allatostatin,AS)的调控,这两种激素由昆虫脑神经内分泌细胞分泌^[22],分别刺激或抑制咽侧体的JH的生物合成^[23]。

目前,已经公认的JH有7种,按照每种所含碳的数目不同将这些JH分别命名为JH I、JH II、JH III、JH O、异构JH O(4-甲基-JH I)、双环氧JH III(JHB3)和甲基法尼酯(MF)。JH在不同的昆虫中有不同的组分。JH I和JH II主要在鳞翅目昆虫中发现,JH O和异构JH O主要存在于鳞翅目的胚胎中,JHB3发现于双翅目(Diptera)的环裂亚目(Cyclorrhapha)和一些半翅目(Hemiptera)昆虫中,MF只存在于蜚蠊目(Blattodea)昆虫体内,而JH III是所有昆虫都存在的最普遍的一种JH。

用JH处理滞育个体只会导致滞育暂时中止,生殖活动开始恢复。将JH处理的马铃薯甲虫(*Leptinotarsa decemlineata*)保留在滞育条件下,成虫将继续保持滞育。当JH处理老熟成虫或将成虫转移到长光照下时,马铃薯甲虫才能较久地维持生殖活动。但在成虫滞育尚未开始前用JH处理可延迟但不能避开滞育^[24]。

2.2 Ecd的合成及调控

Ecd又称蜕皮甾醇,在PG中合成并释放到血淋巴。PTTH与膜上受体结合后,打开Ca²⁺通道,

增加其在细胞中的浓度,使第二信使cAMP的水平上升,从而激活蛋白激酶,使合成Ecd有关的酶得到活化,促使PG合成蜕皮酮(Ecdysone)并释放到血淋巴中,之后蜕皮酮再转化成具更高活性的20-羟基蜕皮酮(20-hydroxyecdysone,20E)。蜕皮酮和20E统称为Ecd。在昆虫体内,Ecd主要以20E的形式起作用^[25]。

在棉铃虫化蛹后的不同发育时期检测血淋巴中Ecd滴度,滞育型蛹始终维持在较低的水平几乎没有变化,非滞育型蛹远高于滞育型蛹的水平且在滞育中期有一个很高的峰,此时的量比滞育型任何一个时期的都高,这一结果与滞育蛹的PTTH变化相一致。以前的研究表明Ecd可解除滞育蛹的滞育,在马铃薯甲虫中,Ecd的滴度在注定进入滞育的幼虫中,几乎是注定非滞育的甲虫2倍。羽化后4d这种滴度很快下降,但随着滞育期的增加又逐渐升高。在卵黄发生期间,雌虫中Ecd的滴度维持在较高的水平上^[24]。

3 神经肽对JH和Ecd的调节

在昆虫中,神经肽作为影响其他激素释放或合成的因子,JH和Ecd的合成需神经肽类激素的启动,如果阻止神经肽类激素合成,昆虫的发育过程将会因体内激素的调节失衡而受到影响。

脑产生促咽侧体激素,从而促进JH分泌。保幼激素对PTTH启动子的活性具有抑制作用,JH在血淋巴中达到一定浓度将会抑制PTTH的合成和释放,缺乏则使PG不能合成和释放Ecd。

JH在保持幼虫形态、性状和促进生殖腺成熟等方面起主要作用。在保持幼虫形态、性状方面,主要是通过Ecd的协同作用来完成的。鳞翅目昆虫,在有JH存在条件下,Ecd的作用仅能使幼虫蜕皮形成幼虫而不能促使幼虫化蛹,而到幼虫末龄期,当JH滴度在血淋巴中降低到最低值,只要Ecd分泌就能引起化蛹蜕皮。

Ecd与神经肽激素在棉铃虫幼虫时期的变化显示,二者之间存在某种关系。幼虫时期滞育和非滞育个体内Ecd在幼虫末龄期都有升高,蜕皮结束后下降。ELISA结果显示神经肽激素的变化趋势几乎与Ecd一致,其峰值较Ecd来得早。

4 结语与展望

激素对滞育的调控是一个复杂的网路系统,往

往是由上游激素首先刺激作用的腺体,促使该腺体合成和分泌下游激素,下游激素与其受体结合后将调控信息进行传递,同时下游激素还可反馈调节上游激素的表达从而调控滞育过程。在此作用过程中某一激素可能具有多种调节功能(如 DH 诱导滞育和促进 PG 合成 Ecd)或是被多种激素调控(如 DH 和 PTTT 刺激合成 Ecd),这些相互关系需要更多的研究。此外,近几年来激素受体的研究也备受关注^[26],Ecd 受体 EcR 和 USP 在烟草天蛾蛹滞育过程中均下调表达,滞育打破后大量上调表达^[27],这些启示将为最终解释激素调控网络提供依据。

自然界大多数害虫都存在滞育现象,利用害虫神经内分泌的调节,使其体内激素水平失调,来达到控制害虫的目的,虽较化学合成的杀虫剂作用慢却对人畜和环境更加安全^[28]。这种在害虫生物防治方面的新思路和新方法,越来越引起人们的注意。

参考文献:

- [1] 徐卫华. 昆虫滞育的研究进展[J]. 昆虫学报, 1999, 42(1): 100-107.
- [2] Denlinger D L. Regulation of diapause[J]. Annu Rev Entomol, 2002, 47: 93-122.
- [3] 黎万顺, 陈斌, 冯国忠, 等. 葱蝇非滞育的全长 cDNA 文库构建[J]. 重庆师范大学学报: 自然科学版, 2010, 27(1): 21-25.
- [4] 陈斌, 黎万顺, 冯国忠, 等. 葱蝇的实验室饲养、生物学及滞育诱导[J]. 重庆师范大学学报: 自然科学版, 2010, 27(2): 9-13.
- [5] 徐卫华. 昆虫滞育研究进展[J]. 昆虫知识, 2008, 45(4): 512-517.
- [6] 李胜. 整合昆虫发育生物学和果蝇遗传学来研究昆虫发育与变态[J]. 昆虫知识, 2007, 44(3): 319-322.
- [7] Hasegawa K. Studies on the voltinism in the silkworm, *Bombyx* with special reference to organs containing determination of voltinism[J]. Proc Jap Acad, 1951, 27: 667-671.
- [8] Xu J, Su J Y, Shen J L, et al. Cloning and expression of the gene encoding the diapause hormone and pheromone biosynthesis activating neuropeptide of the beet armyworm, *Spodoptera exigua* [J]. DNA Sequence, 2007, 18(2): 145-151.
- [9] 徐卫华, 佐藤行洋, 山下兴亚. 家蚕滞育激素基因的克隆[J]. 遗传学报, 1995, 22: 178-184.
- [10] 徐卫华, 王永杰, 张刘宾, 等. 烟实夜蛾性信息素合成激活肽基因的分子克隆[J]. 昆虫学报, 2000, 43(2): 113-119.
- [11] Xu W H, Denlinger D L. Molecular characterization of prothoracicotrophic hormone and diapause hormone in *Heliothis virescens* during diapause and a new role for diapause hormone[J]. Insect Molecular Biology, 2003, 12(5): 509-516.
- [12] Xu W H, Rinehart J P, Denlinger D L. Structural characterization and expression analysis of prothoracicotrophic hormone in the corn earworm, *Helicoverpa zea* [J]. Peptides, 2003, 24: 1319-1325.
- [13] 曾庆礼, 陈芳艳, 张冬燕, 等. 昆虫滞育及滞育关联蛋白[J]. 广东蚕业, 2004, 38(2): 37-41.
- [14] Zhang T Y, Sun J S, Zhang L B, et al. Cloning and expression of the cDNA encoding the FXPR family of peptides and a functional analysis of their effect on breaking pupal diapause in *Helicoverpa armigera* [J]. Journal of Insect Physiology, 2004, 50: 25-33.
- [15] Hewes R S, Taghert P H. Neuropeptides and neuropeptide receptors in the *Drosophila melanogaster* genome [J]. Genome Res, 2001, 11: 1126-1142.
- [16] Vanden B J. Neuropeptides and their precursors in the fruitfly, *Drosophila melanogaster* [J]. Peptides, 2001, 22: 241-254.
- [17] Choi M Y, Lee J M, Han K S, et al. Identification of a new number of PBAN family and immunoreactivity in the central nervous system from *Adoxophyes sp.* (Lepidoptera; Tortricidae) [J]. Insect Biochem Molec Biol, 2004, 34: 927-935.
- [18] Nagasawa H, Kataoka H, Isogai A, et al. Amino acid sequence of a prothoracicotrophic hormone of the *Bombyx mori* [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1986, 83(16): 5840-3.
- [19] 李毅平, 龚和. 昆虫促前胸腺激素研究进展[J]. 生命的化学, 1998, 18(2): 28-31.
- [20] Wei Z J, Zhang Q R, Kang L, et al. Molecular characterization and expression of prothoracicotrophic hormone during development and pupal diapause in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* [J]. Journal of Insect Physiology, 2005, 51: 691-700.
- [21] Mizoguchi A, Dedos S G, Fugo H, et al. Basic pattern of fluctuation in hemolymph PTTT titer during larval-pupal and pupal-adult development of the silkworm, *Bombyx mori* [J]. Gen Comp Endocrinol, 2002, 127(2): 181-189.
- [22] Kumaran A K. Modes of action of juvenile hormones at cellular and molecular levels [M]//Gupta A P. Morphogenetic Hormones of Arthropods. New Brunswick:

- Rutgers University Press, 1990:179-227.
- [23] Bert L I, Granger N A, Roe R M. The juvenile hormones: historical facts and speculations on future research directions[J]. *Insect Biochem Molec Biol*, 2000, 30:617-6441.
- [24] 王忠婵,王方海. 成虫滞育的主要特点及神经内分泌调控[J]. *生物学杂志*, 2006, 23(4):12-14.
- [25] Rewitz K F, Rybczynski R, Warren J T, et al. Identification, characterization and developmental expression of Halloween genes encoding P450 enzymes mediating ecdysone biosynthesis in the tobacco hornworm, *Manduca sexta* [J]. *Insect Biochem Mol Bio*, 2006, 36:188-199.
- [26] Mané P D, Cruz J, Vilaplana L, et al. The nuclear hormone receptor BgE75 links molting and developmental progression in the direct-developing insect *Blattella germanica* [J]. *Dev Bio*, 2008, 315:147-160.
- [27] Fujiwara H, Jinda M, Newitt R, et al. Insect Biochem [J]. *Mole Biol*, 1995, 25(7):845-856.
- [28] 欧阳迎春,唐爽,关雪辰. 昆虫神经肽类激素的研究及应用前景[J]. *植物保护*, 2003, 19(1):9-11.

Animal Sciences

Research Progress of the Hormone Regulation of Insect Diapause

XU Jing-jing, CHEN Bin, HAO You-jin, SI Feng-ling, HE Zheng-bo

(Institute of Entomology and Molecular Biology, College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

Abstract: Insects growth and development are controlled by hormone. Diapause is a special development state. In this state, the significant characteristics are metabolism reducing and arrest of development. In the process of diapause development, a variety of hormone tends to create a network by intercoordination. Diapause plays an important regulatory role in diapause development. Insect neuroendocrine hormone is synthesized by neuroendocrine system and acts as upstream factor to affect insect diapause by regulating the synthesis and release of the downstream hormone. The regulation function of diapause hormone-pheromone biosynthesis activating neuropeptide and prothoracicotropic hormone in the different type of diapause, insects has been widely studied. Located at the downstream in the network of neuropeptide hormone, the hormones ecdysteroids and juvenile hormone also play important regulatory roles but less studied so far. In addition, the research of hormone receptors will provide an important basis to explain the interaction between hormones; and by adjusting the hormone levels in diapause insect which will provide a new method in the biological control of harmful insects.

Key words: insect; diapause; hormone regulation; neuropeptide hormone; juvenile hormone; ecdysteroids

(责任编辑 方 兴)