

# 高温处理不同龄期埃及伊蚊对其发育的影响

喻潇, 鲁亮, 刘起勇

中国疾病预防控制中心传染病预防控制所媒介生物控制室, 世界卫生组织媒介生物监测与管理合作中心, 传染病预防控制国家重点实验室, 北京 102206

**摘要:** **目的** 研究水体高温处理不同阶段幼虫后对埃及伊蚊成虫体型、体重和性别比例的影响, 探究水体高温对埃及伊蚊这些特征产生影响的关键龄期。 **方法** 将不同龄期埃及伊蚊(卵期、1~4 龄幼虫)置于 36 °C 水浴中, 使埃及伊蚊在水浴锅中度过一个龄期后, 移至标准条件下[温度(25 ± 1) °C, 湿度(75 ± 5)%]常规饲养, 羽化为成虫后记录雌雄蚊数量, 60 °C 烤箱中干燥 15 min 测量翅长及体重; 同时将同批埃及伊蚊(分别按卵、1~4 龄幼虫)置于饲养室常规饲养得到标准值。 **结果** 高温作用 2~4 龄幼虫, 其长成的雌蚊翅长明显小于正常值; 2 龄和 4 龄幼虫受高温作用后发育的雌蚊体重下降, 而卵期、1 龄和 3 龄体重下降不明显; 3 龄和 4 龄受高温作用后发育的成虫中雌蚊比例升高, 雄: 雌分别为 0.88 和 0.95, 2 龄幼虫则情况相反, 雄: 雌 = 2.43 : 1。 **结论** 埃及伊蚊不同阶段受高温作用的影响不同, 卵期和 1 龄幼虫受高温影响较小, 2~4 龄受高温影响较大, 说明 2 龄雌性埃及伊蚊是发育的关键阶段, 而 3 龄雄性埃及伊蚊是发育的关键阶段。

**关键词:** 埃及伊蚊; 幼虫; 高温; 翅长; 体重; 性比

中图分类号: R384.1 文献标志码: A 文章编号: 1003-4692(2013)03-0189-04

## Development effects of *Aedes aegypti* treated with high-temperature water in different larval stages

YU Xiao, LU Liang, LIU Qi-yong

WHO Collaborating Center for Vector Surveillance and Management, State Key Laboratory for Infectious Diseases Prevention and Control, National Institute for Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China

Corresponding author: LU Liang, Email: luliang@icdc.cn

Support by the National Basic Research Program of China(973 Program) (No. 2012CB955501)

**Abstract: Objective** To investigate the effects of high-temperature water treatment in different larval stages on the body size, body weight, and sex ratio of adult *Aedes aegypti* and to determine the critical stages when high water temperature exerts significant effects on the above indices. **Methods** *Ae. aegypti* larvae of different instars (including egg stage and the first to fourth instars) were divided into experimental group and control group. The larvae in experimental group were kept in a water bath (36 °C) till they developed to the next instar, and then the living larvae were moved to the insectariums with normal condition [temperature, (25 ± 1) °C; humidity, (75 ± 5)%] and reared conventionally. After eclosion, the numbers of female and male mosquitoes were recorded, and the wing length and body weight were measured after they were dried in an oven (60 °C) for 15 min. The larvae in control group were reared conventionally in the insectariums to get the standard values. **Results** For *Ae. aegypti* larvae of the second to fourth instars in experimental group, their female adults had wing lengths significantly lower than the standard value. For *Ae. aegypti* larvae of the second and fourth instars in experimental group, their female adults had decreased body weights, but the decrease was not significant for the larvae in the egg stage, first instar, and third instar. For *Ae. aegypti* larvae of the third and fourth instars, their adults had male/female ratios of 0.88 : 1 and 0.95 : 1, while the ratio was 2.43 : 1 for the larvae of the second instar. **Conclusion** The effects of high-temperature water treatment on *Ae. aegypti* vary depending on the larval stage; the larvae in the egg stage and first instar are less sensitive to the high water temperature than those in the second to fourth instars. The second instar is a critical stage for the development of female *Ae. aegypti*, and the third instar is a critical stage for the development of male *Ae. aegypti*.

**Key words:** *Aedes aegypti*; Larva; High-temperature; Wing length; Body weight; Sex ratio

基金项目: 国家重大科学研究计划(973 项目)(2012CB955501)

作者简介: 喻潇(1986-), 女, 硕士研究生, 主要从事媒介生物病原生物学及相关公共卫生研究。Email: yuxiao9166@163.com

通讯作者: 鲁亮, Email: luliang@icdc.cn

埃及伊蚊(*Aedes aegypti*)是我国南部地区传播登革热的主要媒介<sup>[1]</sup>。它的生长、发育、存活、繁殖与温度、湿度、光照等自然因素密切相关。作为一种变温动物,埃及伊蚊的体温随环境温度变化而变化,同时体内的各种代谢过程也相应改变速度;湿度能影响昆虫体内水分平衡,对其体内代谢也有一定作用<sup>[2]</sup>。光周期的变化主要与昆虫的滞育特性相关<sup>[3]</sup>。埃及伊蚊属于严格的家栖性蚊种,在热带和亚热带地区,埃及伊蚊一年四季都可以孳生繁殖,由于它孳生在居民生活用的水罐、水缸内,在居民饮用水习惯变化不大的情况下,密度的季节消长主要取决于温度<sup>[4]</sup>,与湿度和光周期关系不大。有研究发现,温度在 20~30 ℃ 范围内,埃及伊蚊幼虫能获得较高的长成率<sup>[5]</sup>。在此温度范围内幼虫的生长发育速度和温度高低成正比,温度升高,埃及伊蚊发育加快,种群数量增多,埃及伊蚊传播的登革热发病率增高。温度对于成蚊的影响则更加多元化,一方面影响其寿命、生殖营养周期和叮咬率等;在适宜温度范围内,成蚊寿命变长,生殖营养周期短,密度增加,叮咬更频繁,最终导致登革热传播的强度增大和持续时间延长<sup>[6]</sup>;另一方面通过改变成蚊所携带登革热病毒的生理学特性,如潜伏期变短等加大登革热的传播风险<sup>[7]</sup>。

大量研究均显示温度对埃及伊蚊的影响尤为显著,温度升高能使该蚊的生长繁殖速度加快、成蚊个体变小、叮咬率升高、种群密度增加、分布范围变广等<sup>[8-10]</sup>,另有文献报道,温度升高能使成虫中雌蚊的比例增高<sup>[11-14]</sup>,但是,以上研究大都从高温对于蚊虫整个世代活动的影响角度出发,而对于作用的关键龄期并不很清楚。埃及伊蚊一生包括 4 个生长阶段:即卵、幼虫、蛹、成虫,其中幼虫又分为 4 个龄期,属于完全变态昆虫。根据昆虫生理学的特征,生物的生长发育在不同阶段对生态因子的要求不同,也就是说,生态因子对中心生物的影响也有阶段性<sup>[2]</sup>。本研究从埃及伊蚊不同的龄期入手,分析高温对不同龄期埃及伊蚊的影响有无差别,探究高温对埃及伊蚊作用最敏感的龄期,进一步验证高温对伊蚊成虫性比的影响,为登革热防治提供一定的生态学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验种群及饲养方法

1.1.1 种群来源 埃及伊蚊实验种群 2011 年采自云南省瑞丽市,经实验室多代饲养驯化繁殖,已达到正常群体的自然繁殖水平。

1.1.2 饲养室基本条件 温度(25±1)℃,相对湿度(75±5)%,水温(25±1)℃,人工控制每天光照 12 h,

使用脱氯自来水,幼虫饲料用羊肝粉和馒头粉按 1:1 混合而成,成蚊饲养用 10% 的蔗糖溶液及饲喂小白鼠血。

### 1.2 实验方法

1.2.1 卵期的高温处理 人工气候模拟室维持 20 ℃ 左右的恒温,水浴锅温度设置为(36±0.1)℃。每个水浴锅中放置 4 个烧杯,内含 250 ml 脱氯水。饲养室 48 h 内所产卵用滤纸收集,在体视显微镜下检查,挑选饱满的蚊卵计数后放入上述烧杯,每个烧杯放入 30 粒卵。每天 2 次观察孵化情况,有幼虫孵化即捞出置饲养室常规饲养。直至首批捞出的幼虫长至 3 龄时认为所有卵已孵化完毕,终止其他卵的孵化,常规饲养幼虫待羽化。实验重复 3 次。记录成虫的雌雄数量,60 ℃ 烘箱中高温干燥 15 min 后测量翅长及体重,计算长成率。

1.2.2 各龄幼虫的高温处理 在上述水浴锅中预热烧杯中的脱氯水至(36±0.1)℃,将饲养室已长至 1~4 龄的幼虫分别计数后放入上述脱氯水中,每个烧杯 30 条幼虫,每天 2 次观察幼虫蜕皮及死亡情况,当有幼虫蜕皮进入下一龄期即捞出置饲养室常规饲养,至所有幼虫蜕皮完毕饲养待羽化。每个龄期实验重复 3 次。记录成虫的雌雄数量,60 ℃ 烘箱中高温干燥 15 min 后测量翅长及体重,计算长成率。

1.2.3 翅长和体重的测量 每次实验随机取 15 只雌蚊用奥林巴斯体视显微镜(SZX16)观察,调整位置后拍照成像,用 Image-Pro Express 分析测量成蚊翅缘基部的膜质腋瓣到翅端的距离即为翅长<sup>[11,15]</sup>,实验重复 3 次,测得所有数据取平均值得到每次实验的平均翅长;体重测量使用 METTLER 电子天平(PB153-S/FACT),测量精度为 1/1000 g,每次分别测雌雄蚊 15 只,得到总体重,每次测 3 组,实验重复 3 次,最后计算每只蚊的平均体重。

1.3 数据分析及处理 用 Excel 软件记录整理相关实验数据,用 SPSS 17.0 软件对数据进行统计分析,均数用  $\bar{x} \pm s$  表示,检验水准  $\alpha = 0.05$ ,进行描述性统计分析、方差分析、 $\chi^2$  检验及相关性分析。

## 2 结果

2.1 高温处理不同龄期埃及伊蚊对其翅长的影响 埃及伊蚊全代都在饲养室条件下饲养羽化变成成虫后,体视镜下测量得到标准雌蚊翅长平均值为(3.05±0.03)mm,高温能使埃及伊蚊成虫的平均翅长缩短,并且该结果与高温作用的龄期相关,经方差分析高温对不同龄期埃及伊蚊雌蚊翅长的影响差异有统计学意义( $F = 65.149, P < 0.01$ )。两两比较后,卵期与 1 龄幼虫受高温影响较小,差异无统计学意义。而高温作用于

2~4龄幼虫后长成的雌蚊与标准条件下饲养的雌蚊比较,翅长小于标准值,且差异有统计学意义( $P < 0.05$ )(表1)。

**表1** 不同发育时期埃及伊蚊受高温作用后雌蚊的翅长  
**Table 1** Wing lengths of adult female *Ae. aegypti* after high-temperature water treatment in different larval stages

龄期	温度(℃)	翅长(mm)
卵	36±0.1	3.03±0.03
1	36±0.1	3.05±0.02
2	36±0.1	2.86±0.02 <sup>a</sup>
3	36±0.1	2.85±0.02 <sup>a</sup>
4	36±0.1	2.47±0.03 <sup>a</sup>
标准	25±1.0	3.05±0.03

注: a. 表示翅长与标准值在0.05水平上差异有统计学意义。

2.2 高温处理不同龄期埃及伊蚊对其体重的影响  
不同龄期受高温作用后发育的成虫体重情况见表2。在饲养室标准条件下得到埃及伊蚊成虫的体重标准值,不同龄期经高温作用后的体重经方差分析,差异有统计学意义。分别与标准值比较后,卵期、1龄和3龄受高温影响较小,差异无统计学意义;而2、4龄与标准值比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),说明高温作用于这2个龄期的幼虫后其成虫体重小于标准值。

**表2** 不同发育时期埃及伊蚊受高温作用后成虫的体重  
**Table 2** Body weights of adult *Ae. aegypti* after high-temperature water treatment in different larval stages

龄期	温度(℃)	体重(mg)	
		雌性	雄性
卵	36±0.1	1.27±0.04	0.47±0.04
1	36±0.1	1.27±0.04	0.44±0.02
2	36±0.1	0.67±0.04 <sup>a</sup>	0.29±0.06
3	36±0.1	1.09±0.13	0.47±0.04
4	36±0.1	0.98±0.06 <sup>a</sup>	0.42±0.02
标准	25±1.0	1.31±0.08	0.49±0.02

注: a. 表示体重与标准值在0.05水平上差异有统计学意义。

2.3 高温处理不同龄期埃及伊蚊对其性比的影响  
埃及伊蚊整个世代(卵-成虫)都受36℃高温作用时,其不能完成全代发育,不能得到雌雄比。只有某一龄期处于此温度下,埃及伊蚊能完成全代发育。本次研究发现高温对埃及伊蚊成虫性比的影响是分龄期的,作用于卵期和1龄时成虫的性比基本无影响,3龄和4龄受高温作用后成虫中雌蚊比例升高,而2龄受高温作用后成虫中雄蚊数量反而增多,与饲养室得到的性比经 $\chi^2$ 检验,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )(表3)。

### 3 讨论

埃及伊蚊在我国主要分布于海南、云南及广东省、广西壮族自治区的局部地区<sup>[16]</sup>,这些地区属于热带或

**表3** 不同发育时期埃及伊蚊受高温作用后成虫的性比  
**Table 3** Sex ratios of adult *Ae. aegypti* after high-temperature water treatment in different larval stages

龄期	温度(℃)	试虫数(只)	处理阶段的死亡数(只)	长成数(只)	雌性:雄性
卵	36±0.1	360	13	273	1.07(141:132)
1	36±0.1	400	9	267	0.99(183:184)
2	36±0.1	550	106	223	2.43(158:65) <sup>a</sup>
3	36±0.1	640	3	580	0.88(272:308) <sup>a</sup>
4	36±0.1	640	331	214	0.95(104:110) <sup>a</sup>
标准	25±1.0	960	-	810	1.14(432:378)

注: a. 表示性比与标准值在0.05水平上差异有统计学意义。

亚热带气候,IPCC(政府间气候变化专门委员会)曾预测热带地区的平均气温将上升至30.4~34.8℃,温度的升高可改变埃及伊蚊的生理生态学特性,一定程度上加大了登革热防控难度。近年来,国内外学者做了相关研究,发现高温可对蚊虫的发育速度、个体大小、体重、性比、携带病原的能力等产生重要影响<sup>[13,17-18]</sup>。

本研究从高温对不同龄期埃及伊蚊作用的角度出发,发现2~4龄幼虫在36℃高温作用下度过一个龄期后,成虫的翅长均小于饲养室标准饲养的成虫翅长,这一结果与Tun-Lin等研究高温作用于埃及伊蚊整个世代成虫的平均翅长缩短的结果一致<sup>[11]</sup>;而卵期和1龄的差别不显著,可能是这两个阶段高温处理不影响后面阶段的发育<sup>[19]</sup>。体重方面,2龄和4龄幼虫受高温作用后雌性成虫体重降低最明显,提示2龄幼虫可能是雌性埃及伊蚊生长发育的关键时期;4龄是幼虫发育最长的一个阶段,其新陈代谢受高温影响时间最长,体重降低也较大。

性比是种群结果的主要指标之一。种群内的性比对种群出生率和死亡率有极其重要的影响,是构成昆虫种群数量变动的重要因素<sup>[2]</sup>。登革热是通过感染登革热病毒的雌蚊叮咬人而传播,在一定范围内温度升高使雌蚊数量增多,能增加登革热的传播概率。本研究发现,高温作用于卵期和1龄幼虫对成虫的性比基本无影响,作用于3、4龄期时均会使雌蚊比例升高,该结果与Mohammed和Chadee<sup>[12]</sup>及Mourya等<sup>[13]</sup>研究温度升高,雌蚊数量增多结果一致,Tun-Lin等在研究中得到温度为30℃时,雄:雌=0.75<sup>[11]</sup>。但本研究发现高温作用于2龄幼虫反而使成虫中雄蚊数量明显增多,可能与埃及伊蚊不同性别的发育时间不同有关。卵和1龄幼虫受高温处理后成虫的性比没有变化,说明在卵和1龄阶段,还没有发生性别分化。2龄幼虫阶段雌性幼体首先发生与性别相关的发育,而这个发育过程又容易受到高温的影响,造成雌性幼虫的死亡。从3龄幼虫开始雄性幼体发生与性别相关的发育,高温同样也对发育有不利影响,因此,3龄期间受高温处

理后,成虫中的雄性比例降低。但从表3的数据可以看出,3龄幼虫受高温处理后,当时的死亡率并不高,主要的死亡都发生在后期正常饲养期间,显示高温对雄性个体的影响具有滞效。4龄阶段的高温依然对雄性个体发育不利,但由于这个阶段雄性发育时间短,受高温处理的时间短,所以存活率有所提高。

昆虫的性别决定机制变化多样,因物种不同而异。目前除少数与人类关系密切的重要经济昆虫的性别决定机制已经确定之外,其余大多数昆虫的性别决定机制尚待研究<sup>[20]</sup>。个体的性别主要由遗传物质决定,个体发育过程中,在染色体中遗传物质的调控下,生物体胚胎早期性别决定初级信号启动、活化性别决定基因,活化后的性别决定基因启动性别分化基因的表达,从而个体表现出性别。但是整个种群的性比还受环境及其他外部条件的调节,如其中某一性别的死亡率升高或降低都会导致种群性比的变化。综合本研究结果分析,在埃及伊蚊的2龄幼虫阶段,雌性幼虫发育开始启动,而雄性发育的启动则发生在3龄幼虫阶段。如果性别发育的启动受到高温的影响,一方面使得这个性别的幼虫在启动阶段死亡率增高,另一方面也会影响其以后各阶段中的发育,从而使成虫的体重降低。

与国内外大多数研究不同的是,本研究考虑了高温对某一龄期的单独影响,此点也更符合自然界的实际情况。因为在自然环境中,温度不是恒定的,呈现一定的昼夜波动和季节变化规律。即使我国南方夏季白天最高气温达到36℃甚至更高,但是这样的高温天气不是很多,而且夜间气温也不会这样高,所以,从埃及伊蚊的整个世代发育来看,该蚊受高温的影响有可能只是其中的某一个或几个龄期。本研究通过实验室生态学发现高温对不同龄期埃及伊蚊发育的影响,但是高温影响这些龄期发育的机制,尤其是对2龄时成虫中雄蚊反而增多未做深入探讨,这些都有待进一步的分子生物学和遗传学方面的研究。

#### 参考文献

- [1] 谢晖,周红宁,杨亚明.我国登革热重要媒介埃及伊蚊的研究进展[J].中国媒介生物学及控制杂志,2011,22(2):194-197.
- [2] 彩万志,庞雄飞,花保祯,等.普通昆虫学[M].北京:中国农业出版社,2001:390-402,438-443.
- [3] 雷朝亮,荣秀兰.普通昆虫学[M].北京:中国农业出版社,2003:481-482.
- [4] 董学书,周红宁,龚正达,等.云南蚊类志[M].昆明:云南科技出版社,2008:62-63.
- [5] Rueda LM, Patel KJ, Axtell RC, et al. Temperature-dependent development and survival rates of *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) [J]. J Med Entomol, 1990, 27(5): 892-898.
- [6] Tun-Lin W, Burkot TR, Kay BH. Effects of temperature and larval diet on development rates and survival of the dengue vector *Aedes aegypti* in north Queensland [J]. Med Vet Entomol, 2000, 14(1): 31-37.
- [7] Jetten TH, Focks DA. Potential changes in the distribution of dengue transmission under climate warming [J]. Am J Trop Med Hyg, 1997, 57(3):285-297.
- [8] Thai KT, Anders KL. The role of climate variability and change in the transmission dynamics and geographic distribution of dengue [J]. Exp Biol Med (Maywood), 2011, 236(8):944-954.
- [9] Muturi EJ, Alto BW. Larval environmental temperature and insecticide exposure alter *Aedes aegypti* competence for arboviruses [J]. Vector Borne Zoonotic Dis, 2011, 11(8):1157-1163.
- [10] 郑能雄,林云钦,罗斌,等.福州市登革热蚊媒种群生态学研究[J].海峡预防医学杂志,2003,9(2):8-11.
- [11] Yadav P, Barde PV, Gokhale MD, et al. Effect of temperature and insecticide stresses on *Aedes aegypti* larvae and their influence on the susceptibility of mosquitoes to Dengue 2 virus [J]. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 2005, 36(5): 1139-1144.
- [12] Mohammed A, Chadee DD. Effects of different temperature regimens on the development of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) mosquitoes [J]. Acta Trop, 2011, 119(1):38-43.
- [13] Mourya DT, Yadav P, Mishra AC. Effect of temperature stress on immature stages and susceptibility of *Aedes aegypti* mosquitoes to chikungunya virus [J]. Am J Trop Med Hyg, 2004, 70(4):346-350.
- [14] 王荫长.昆虫生理学[M].北京:中国农业出版社,2004:399-401.
- [15] 陆宝麟,吴厚永.中国重要医学昆虫分类与鉴别[M].郑州:河南科学技术出版社,2003:6-8.
- [16] 卫生部疾病预防控制局.登革热防治手册[M].北京:人民卫生出版社,2008:25-26.
- [17] Watts DM, Burke DS, Harriso BA, et al. Effect of temperature on the vector efficiency of *Aedes aegypti* for Dengue 2 virus [J]. Am J Trop Med Hyg, 1987, 6(1):143-152.
- [18] Turell MJ, Lundstrom JO. Effect of environmental temperature on the vector competence of *Aedes aegypti* and *Ae. taeniorhynchus* for Ockelbo virus [J]. Am J Trop Med Hyg, 1990, 43(5):543-550.
- [19] da Silva HH, da Silva IG. The effect of the period of egg quiescence on the life cycle of *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) (Diptera: Culicidae) under laboratory conditions [J]. Rev Soc Bras Med Trop, 1999, 32(4):349-355.
- [20] 查幸福,夏庆友,向仲怀,等.昆虫性别决定的分子机制研究进展[J].蚕业科学,2006,32(2):151-155.

收稿日期:2012-12-20