Korean J. Zool. 36:6-13, 1993

연두금파리 유충의 중추신경계에서 세로토닌 면역반응성세포의 동정

김관선[1] · 이봉희[2] · 김우갑[1]

고려대학교 생물학과[1], 순천향대학교 생물학과[2]

연두금파리 유충의 뇌와 복신경절에 분포하는 세로토닌 면역반응성 세포를 면역조직화학적 방법을 이용하여 동정하였다. 세로토닌세포는 뇌에 28개, 제1식도하신경절의 첫째마디에 6개, 둘째마디에 10개 그리고 세째마디에 6개가 각각 존재하였다. 그리고 앞가슴신경절에 6개, 가운데가슴신경절에 4개 그리고 뒷가슴신경절에 4개가 각각 위치하였다. 또한 복부신경절에서는 첫째 마디부터 일곱째 마디까지 각각 4개가 존재하였고 마지막마디인 여덟째마디에서는 단지 두개의 세포만이 관찰되었다. 결국 연두금파리 유충의 중추신경계에는 모두 94개의 세로토닌 면역반응성 세포들이 분포하였다. 이들 세포로부터 뻗어나온 축색들은 뉴로파일내에서 분지하거나 횡연합섬유를 이루었다.

KEY WORDS: Serotonin-immunoreactive neuron, CNS, Insect

세로토닌(serotonin or 5-hydroxytryptamine, 5-HT)은 척추동물과 무척추동물에서 신경전달물질(neurotransmitter)이나 신경호르몬(neurohormone)으로 작용하는 것이 알려져 있다(Haigler and Aghajanian, 1974; Gerschenfeld *et al.*, 1981; Gardner and Walker, 1982). 또한 곤충의 신경계에서 세로토닌이 생화학적 방법으로 검출된 후(Gersch *et al.*, 1961) 신경계내에서 dopamine, norepinephrine, octopamine, 세로토닌과 같은 아민계통의 물질들이 들어 있음이 발표되었다(Evans, 1980). 그후 면역조직화학적 방법(immunohistochemistry)이 개발되면서(Steinbusch, 1981; Steinbusch *et al.*, 1982) 곤충 신경계의 연구에도 이 방법이 도입되어 신경세포내의 특정한 물질에 대한 표지된 항체를 이용하여 신경세포들을 동정하고 추적하는 것이 가능해 졌다(Bishop and O'Shea, 1982; Duve and Thorpe, 1981; Nässel *et al.*, 1983; El-Salhy *et al.*, 1983; Verhaert and De Loof. 1985; Flanagan, 1986; Cantera and Nässel, 1987; Konings *et al.*, 1988; Breidbach, 1990).

곤충의 신경계에서 특정한 뉴우론을 찾고자 말초신경을 통해 세포내로 직접 염료를 주입하기도 하였지만(Levine and Truman, 1982) 이러한 연구들은 파리목에서는 아직까지 성공적이지 못하였다. 왜냐하면 파리의 신경세포들은 말초신경을 비롯하여 모든 신경세포들이 매우 작아서 이러한 작은 신경을 통해 염료를 주입하는데 어려움이 있었기 때문이다. 그러나 면역조직화학적 방법은 염료를 주입하지 않고도 개개의 세포들을 구별할 수 있기 때문에 파리목과 같은 작은 곤충의 신경계를 연구하는데 있어서 매우 좋은 방법이 될 수 있다. Calliphora와 같은 파리목의 신경계에서 세로토닌 면역 반응성 뉴우론(serotonin-immunoreactive neurons, 이하 '세로토닌세포'라 칭함)들의 분포들이 연구되었으며(Nässel *et al.*, 1983; Nässel and Elekes, 1984) 또한 Nässel과 Klemm(1983)은 *Schistocerca gregaria, Periplaneta americana,* 그리고 *Calliphora erythrocephala*의 시엽(optic lobe)에서 세로토닌 항체에 반응 하는 뉴우론들을 발견하였다. 이들의 연구는 모두

적은 수의 세로토닌세포들이 신경계에 존재하며 이들 뉴우론들은 매우 풍부한 섬유를 내어 신경계내의 많은 부위를 차지하고 있다는 것을 알 수 있다.

본 연구는 세로토닌에 대한 항체를 이용한 면역조직화학적 방법으로 연두금파리 중추신경계에서 세로토닌 세포들을 동정하고 그 분포를 확인하며 이들 뉴우론의 축색들과 미세섬유들의 주행방향을 추적하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

연두금파리(*Lucilia illustris* Meigen)를 소의 간과 당밀, 포도당, 설탕, 효모 등을 배합한 인공배지에서 계대사육하였다. 12시간의 일조조건, 26 28, 그리고 50-55%의 상대습도 하에서 이들은 약 7일간의 유충기와 약 5일 간의 번데기 시기를 거쳐 우화되었다. 이들 중에서 종령유충인 3령 유충을 실험재료로 사용하였다.

실험방법

뇌와 신경절을 4°C의 4% paraformaldehyde에 1시간 30분 내지 4시간 동안 고정하였다. 고정 후 재료들은 0.01 M PBS(0.85% NaCl, pH 7.2)에 수차례 세척하고 알코올로 탈수하여 파라핀(56-58°C)과 Bee's wax의 혼합물에 포매하였다. 절편기를 이용하여 연속절편을 6-10 μm의 두께로 제작하여 젤라틴의 막을 입힌 슬라이드에 붙혀 실온에서 12시간 동안 건조시켰다. 건조된 절편은 xylene에서 파라핀을 제거한 후 수화시켰다. 수화된 절편은 0.3% hydrogen peroxide를 포함하는 메탄올에 30분간 담가 둠으로써 내재되어 있음직한 peroxidase를 불화성화 시킨 후 PBS에 수차례 세척하였다. 그 후 비특이 반응을 예방하기 위하여 염소의 normal serum(PBS에 1:70으로 희석)으로 20분간 처리하였다. 세로토닌 항체(paraformaldehyde를 이용하여 세로토닌을 소의 혈청 알부민에 결합시킨 후, 토끼에 주사해서 얻은 항체, Incstar Co.)는 1:1000으로 PBS에 희석하고 소의 혈청 알부민(BSA)을 5 mg/ml로 첨가하였다. 이 항체 용액을 슬라이드의 절편위에 4-6 방울을 떨어뜨려서 실온에서 1시간 혹은 4°C에서 24-48시간 동안 반응시켰다. PBS로 10분씩 3회 재료를 세척하여 조직내의 세로토닌과 결합하지 않은 항체를 모두 제거시킨 후 biotin이 결합된 염소의 2차 항체(Vectastain Lab.)와 30분간 반응시켰다. PBS로 다시 세척한 후 peroxidase가 결합된 avidin-biotin complex (Vectastain Lab.)를 40분 간 처리하고 PBS에 수차례 세척하였다. 0.05% Diaminobenzidine tetrahy drochloride(DAB) (Sigma Co.)를 0.015% hydrogen peroxide와 함께 peroxidase에 대한 기질로서 2-7분 간 처리하여 반응부위를 발색시켰다. 면역염색이 끝난 절편은 hematoxylin으로 약하게 대조염색하고 탈수하여 Euparal(Schmid and Co.)로 봉입한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

결과

유충의 신경계는 뇌(supraoesophageal ganglion, brain)와 복면신경절(ventral ganglia)로 이루어져 있었다. 뇌는 전대뇌(protocerebrum), 중대뇌(deutocerebrum), 그리고 후대뇌(tritocerebrum)등 세개의 neuromere가 융합되어 있었다. 그리고 복신경절은 3쌍의 식도하신경절(suboesophageal ganglia)과 3쌍의 가슴신경절(thoracic ganglia) 그리고 8쌍의 복부신경절(abdominal ganglia)로 구성되어 있었는데 이들은 뇌와 함께 모두 융합되어 하나로 나타났다.

세로토닌세포들은 뇌의 좌우에 14개씩 모두 28개가 있는데 이들은 등쪽에 좌우로 6개씩, 중간층에 4개씩, 그리고 복부쪽에 4개씩 존재한다. 이들 모두는 단극성세포로서 한개의 축색을 낸다. 이들 축색은 뇌의 중앙부로 이동하여 뉴로파일내로 들어가 분지하기도 하며(Figs. 1, 3) 좌우를 연결하는 횡연합섬유(commissural

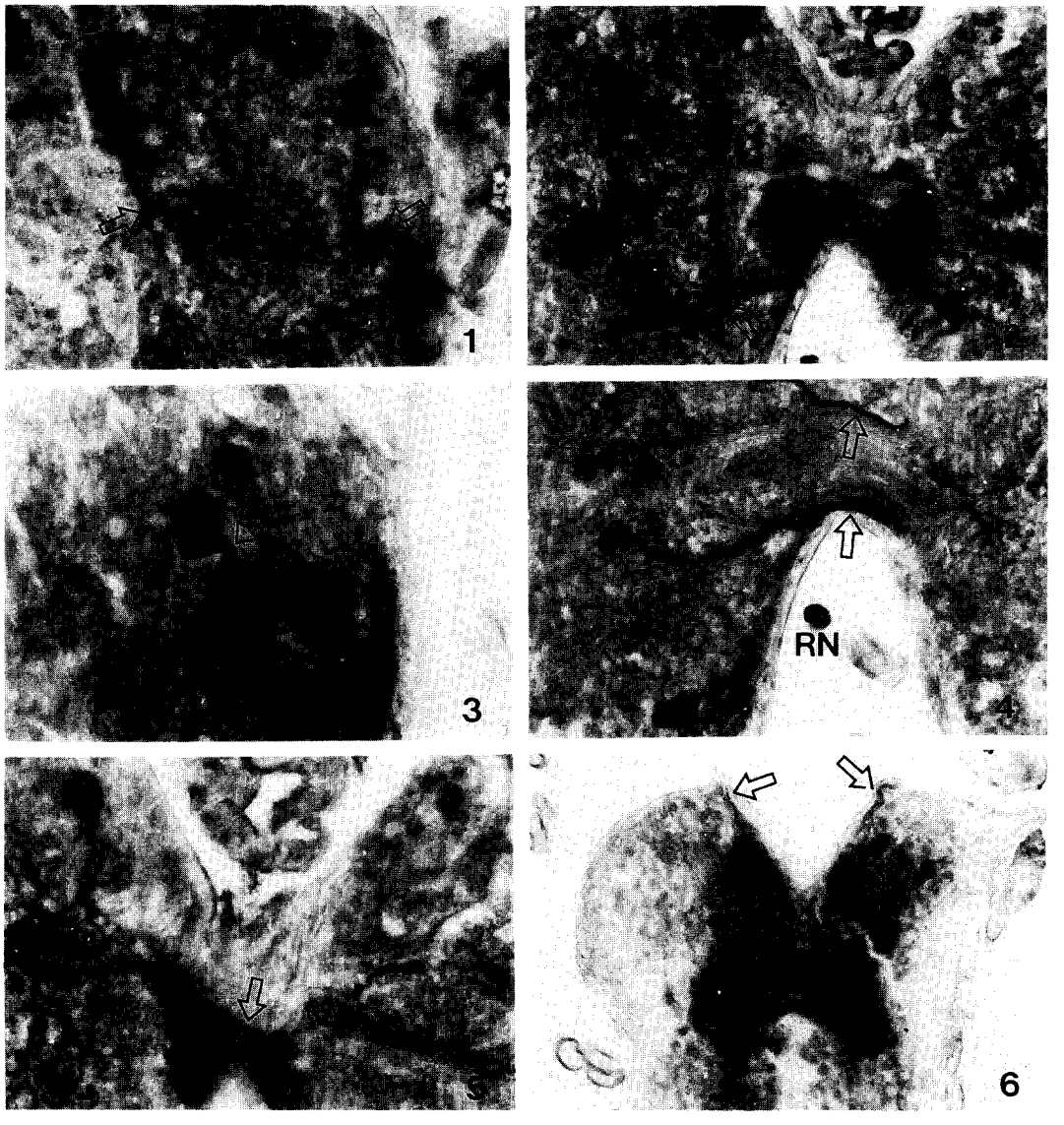


Fig. 1. Frontal plane through the brain containing the 5-HTi cell in the dorsal part of the protocerebrum. The 5-HTi cells project their processes into the central neuropil (arrow). × 360.
Fig. 2. Frontal plane through the brain containing 5-HTi cell projected its axon ventrally (arrow) into the neuropil of antennal lobe in the tritocerebrum. × 360.
Fig. 3. Horixontal plane throughf the brain showing 5_HTi cells and their arborization in the neuropil (arrow). × 360.
Fig. 4. Frontal section through the brain containing 5-HTi fibers (arrows) in the central commissural structures. × 370.
Fig. 5. Posterior frontal section through the brain including three 5-HTi commissural fibers (arrow) different from those in Fig. 37. × 370.
Fig. 6. Horizontal plane through the tritocerebrum of the brain. Note that antenno-labro-frontal nerves (arrows) leaving the tritocerebrum show serotonin-immunoreactivity. × 160.

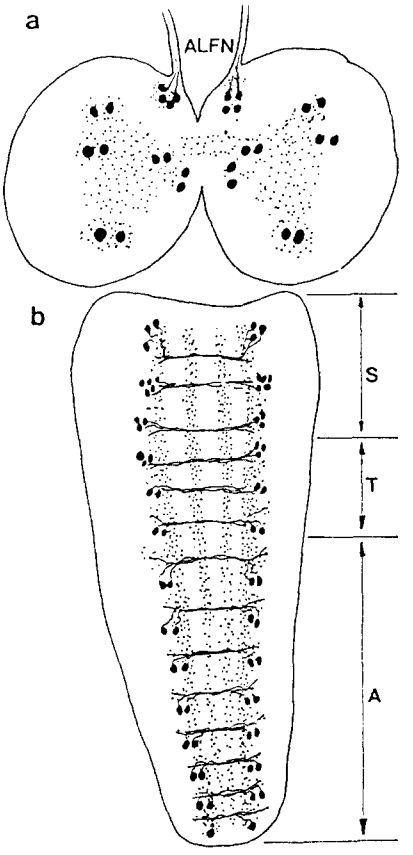
fibers)를 이루기도 한다(Figs. 4, 5). 전대뇌에서 유래한 세로토닌 반응성 섬유가 후대뇌의 촉각엽(antennal lobe)내의 뉴로파일내로 들어가는 것이 관찰되기도 하였다(Fig. 2). 그러나 시엽원기(imaginal optic disc)에서는 세로토닌 반응성이 전혀 나타나지 않았다.

유충의 중추신경계와 함께 적출되기도 하는 역주신경(recurrent nerve)에서도 강한 세로토닌 반응성이 나타났다(Fig. 4). 그리고 후대뇌에 존재하는 세로토닌세포에서 유래한 섬유들이 antenno-labro-frontal nerve로 빠져 나가는 것도 관찰되었다(Fig. 6, Text-Figure).

식도하신경절에는 첫째 마디에 6개, 둘째 마디에 10개, 그리고 세째 마디에 6개의 세로토닌세포들이 존재한다(Text-Figure). 이들은 신경절의 배쪽에 대칭형으로 나타나며 이들 세포에서 나온 축색들은 위쪽으로 뻗어 뉴로파일내로 들어가 분지하며 일부의 가지는 뉴로파일내의 배쪽에 위치하는 횡연합섬유의 일부를 이루고 있었다. 그리고 또 다른 가지들은 더욱 분지하여 뉴로파일을 채우고 있었다. 세로토닌세포와 횡연합 섬유와의 입체구조적 관계는 각각의 마디에 따라 서로 다르게 나타난다. 첫째 마디는 횡연합섬유를 기준으로 세로토닌세포들이 앞쪽 아래에 위치한다. 둘째 마디와 세째 마디의 세로토닌세포들도 횡연합섬유의 아래쪽에 위치하나 첫째 마디의 세로토닌세포들과는 달리 횡연합섬유에 비해 앞쪽으로 치우쳐 있지는 않다(Text-Figure).

식도하신경절 이후의 세개의 마디가 가슴신경절을 이룬다. 세로토닌세포들은 앞가슴신경절(prothoracic ganglion)에 6개, 가운데가슴신경절(mesothoracic ganglion)에 4개 그리고 뒷가슴신경절(metathoracic ganglion)에 4개씩 존재한다(Text-Figure). 이들 세로토닌세포들은 신경절의 배쪽에 좌우로 나누어 위치하는데 이들 세포로부터의 축색은 위로 올라가 뉴로파일내로 들어가서 분지하며 일부의 섬유들은 횡연합섬유를 이룬다(Text-Figure, Fig. 7). 그리고 일부의 섬유들은 뉴로파일의 중간에서 등쪽으로 뻗고 있기도 하였다(Fig. 8). 앞가슴신경절과 가운데가슴신경절의 세로토닌세포들도 세로토닌 반응성 횡연합섬유에 비해 배쪽에 위치하고, 뒷가슴신경절의 세로토닌세포들도 횡연합섬유에 비해 배쪽에 위치하며 좀 더 뒤쪽에 존재함으로써 차이를 나타낸다(Text-Figure).

가슴신경절 이후의 8개의 마디가 복부신경절(abdominal ganglion)을 이루는데 첫째 마디부터 일곱째 마디까지는 각각 2쌍씩 그리고 마지막 마디인 여덟째 마디는 1쌍의 세로토닌세포들를 갖고 있었다(Text-Figure). 이들 세포들도 역시 뉴로파일의 배쪽의 양쪽에 존재하고(Fig. 9), 모두 단극성 축색을 뉴로파일내로 뻗어 분지하며 일부는 횡연합섬유를 이룬다(Fig. 10).



Text-Figure. Schematic dorsal view of the brain (a) and ventral ganglia (b) of the last larva showing the 5-HTi cell bodies and their processes. Note that at least two 5-HTi cells project their axons toward the antenno-labro-frontal nerve (ALFN). S: suboesophageal ganglion, T: thoracic ganglion, A: abdominal ganglion.

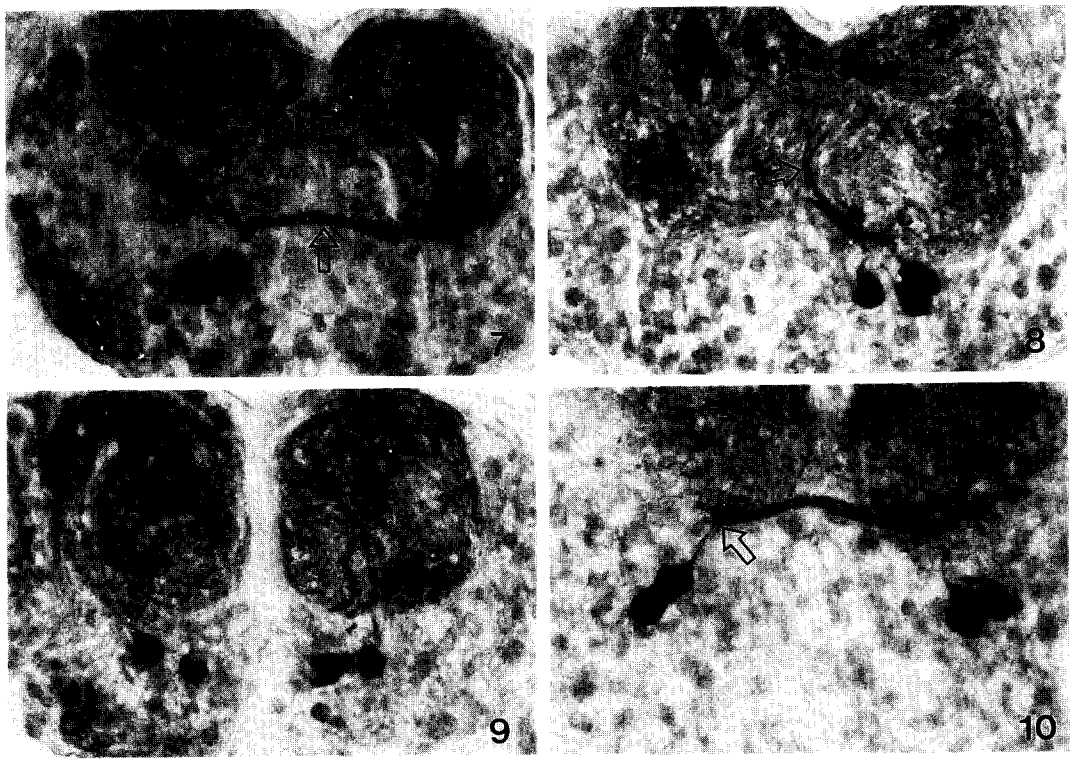


Fig. 7. Frontal plane of the prothoracic ganglion. Some fibers from the 5-HTi cell bodies contribute to form ventral commissure of the neuropil (arrow). × 430.
Fig. 8. Frontal plane through the prothoracic ganglion. Some cell project its 5-HTi processes into the vental neuropil region. The fibers run ventral part of the neuropil. Some fibers project dorsally through the medial region of the neuropil (arrow). × 470.
Fig. 9. Frontally-sectioned plane through the 7th neuromere of abdominal ganglia including 5-HTi cell bodies lacated ventrally rather than laterally. × 440.
Fig. 10. Oblique horizontal plane through the 2nd neuromere of abdominal ganglia. × 510.

세로토닌세포들은 횡연합섬유보다 배쪽 뒤에 존재하며 첫째마디의 세로토닌세포는 다른 마디의 경우보다 더욱 뒤로 치우쳐 존재한다. 여덟째 마디의 세로토닌세포는 뉴로파일의 끝부분에서 약간 뒤쪽으로 치우쳐 있을 뿐 다른 마디의 경우처럼 아래쪽에 있지는 않다. 뇌와 신경절내의 뉴로파일의 대부분은 세로토닌 반응성을 나타내고 있는 것으로 보아 세로토닌세포들의 축색이 뉴로파일내로 들어가 크게 분지함을 알 수 있다. 그러나 뇌와 신경절에 존재하는 횡연합 섬유중에서는 세로토닌 반응성을 전혀 보이지 않는 횡연합 섬유들이 관찰되기도 하였다.

고찰

곤충의 신경계에는 dopamine, noradrenaline, octopamine, 세로토닌과 같은 아민계통의 물질(Klemm, 1976, Klemm *et al.*, 1986; Evans, 1980)들과, acetylcholine, γ-aminobutyric acid(GABA), glutamate (Klemm, 1976; Breer and Heiligenberg, 1985), 펩티드인 proctolin(Starrat and Brown, 1975) 등이 존재하는 것으로 알려져 있다. 세로토닌에 대해서는 특히 많은 생리 생화학적 연구가 진행되어 세로토닌에 대한 정량분석과 세로토닌의 성질등이 보고되었다(Colhoun,

1963; Klemm and Axelsson, 1973; Osborne and Neuhoff, 1974; Slowley and Owen, 1982; N ssel and Laxmyr, 1983; Trimmer, 1985).

세로토닌에 대한 항체는 면역조직화학적 연구에 크게 이용되고 있으며 많은 연구에서 비특이성 반응은 나타나지않는 것으로 알려져있다 (Steinbusch *et al.*, 1983; Pecci Saavedra *et al.*, 1983; Tandler *et al.*, 1986). 즉 세로토닌 항체가 다른 아민들과 상호결합하지는 않는다. 왜냐하면 세로토닌 항체를 세로토닌으로 흡착시키는 것이 다른 아민에 비해 가장 효과적으로 면역반응을 억제시킬 수 있었기 때문이다 (Tyrer *et al.*, 1984). 그러나 Tyrer 등 (1984)은 아무리 많은 양의 세로토닌을 이용하여 항체를 흡착시키더라도 신경계에서 세로토닌 면역반응성을 완전히 억제시킬 수는 없다고 하였다. 이것은 세로토닌에 대한 항체를 생합성할때 세로토닌 자체에 대한 항체를 생합성하는 것이 아니고 세로토닌을 paraformaldehyde를 이용하여 bovine serum albumin에 결합시켜 항원으로 사용하기 때문에 이 결합체내에 형성된 tetrahydro-β-carboline 부위를 항원부위로 인식하여 합성된 항체는 세로토닌이 paraformaldehyde와 결합되어야만 면역반응을 일으킬 수 있기 때문이다(Pecci Saavedra *et al.*, 1983). 이것은 세로토닌에 대한 면역반응시 paraformaldehyde로 고정을 해야만 하는 이유이기도 하다. 이와같은 사실로 볼때 세로토닌항체와 면역조직화학적으로 반응하는 뉴우론은 세로토닌을 갖고 있다고 여겨진다.

Bishop과 O'Shea(1983)은 바퀴벌레의 중추신경계에 72개의 세로토닌세포들이 존재한다고 하였다. 파리의 경우에는 Nässel과 Cantera (1985)가 *Calliphora erythrocephala*와 *Sarcophaga bullata*의 유충에서 각각 96, 98개의 세로토닌세포를 보고 하였다. 본 실험에 사용된 *Lucilia illustris* 유충의 중추신경계에서는 세로토닌세포가 94개가 관찰됨으로써 같은 파리류내에서도 종간에 약간씩 차이가 있음을 알 수 있다. 뇌에 분포하는 세로토닌세포들은 축색을 뇌의 여러 뉴로파일내로 뻗어 세로토닌 반응성을 보였으나 시엽원기에서는 전혀 면역반응성이 관찰되지 않았다. 후대뇌의 antenno-labro-frontal nerve에서 말초신경계로 빠져 나가는 부위를 제외한 나머지 세로토닌 반응성 섬유들은 중추신경계내에만 존재하는 것으로 보아 이들 세로토닌 반응성 뉴우론은 연합뉴우론(interneuron)인 것으로 추측된다. 복부신경절의 각 마디간에 세로토닌세포의 갯수는 모두 동일하지는 않았지만 세로토닌 반응성 축색들의 분지양상은 비슷하게 나타났다. 복부쪽 신경절내에 있는 뉴로파일의 기능이 마디별로 알려져 있지는 않다. 그러나 세로토닌 반응성 섬유들은 뉴로파일의 전 지역에 걸쳐 비교적 고르게 분포하고 있는 것으로 보아 세로토닌세포들은 특정한 마디에 국한된 기능을 수행한다기 보다는 다른 뉴우론들과 함께 통합적인 기능을 수행하는 것으로 여겨진다.

식도위를 따라 달리는 역주신경내에서 세로토닌 반응성 축색들이 관찰되었다. 본 실험에서는 이마신경절(frontal ganglion)을 관찰하지 않았기 때문에 역주신경내에서 나타나는 면역반응성 섬유들의 기원이 후대뇌인지 아니면 이마신경절 등 다른 곳에서 오는 것인지에 대해서는 앞으로의 연구가 있어야 할 것으로 사료된다.

인용문헌

Bishop, C.A. and M. O'Shea, 1982. Neuropeptide proctolin (H-Arg-Try-Leu-Pro-Thr-OH): Immuno-cytochemical mapping of neurons in the central nervous system of the cockroach. *J. Comp. Neurol.* **207:** 223-238.

Bishop, C.A. and M. O'Shea, 1983. Serotonin immunoreactive neurons in the central nervous system of an insect (*Periplaneta americana*). J. *Neurobiol.* **14:** 251-269.

Breer, H. and H. Heiligenberg, 1985. Neurochemistry of GABAergic activities in the central nervous system of *Locusta migratoria*. *J. Comp. Physiol. A.* **157:** 343-354.

Breidbach, O., 1990. Serotonin-immunoreactive brain interneurons persist during metamorphosis of an insect: a developmental study of the brain of *Tenebrio molitor L.* (Coleoptera). *Cell Tissue Res.* **259:** 345-360.

Cantera, R. and D.R. Nässel, 1987. Postembryonic development of serotonin-immunoreactive neurons in the central nervous system of the blowfly. II. The thoracico-abdominal ganglia. *Cell Tissue Res.* **250:** 449-459.

Colhoun, E.H., 1963. The synthesis of 5-hydroxytryptamine in the American cockroach. *Experientia* **19:** 9-10.

Duve, H. and A. Thorpe, 1981. Gastrin/Cholecystokinin (CCK)-like immunoreactive neurones in the brain of the blowfly, *Calliphora erythrocephala* (Diptera). *Cell Tissue Res.* **233:** 415-426.

El-Salhy, M., S. Falkmer, K.J. Kramer and R.D. Spiers, 1983. Immunohistochemical investigations of neuropeptides in the brain, corpora cardiaca, and corpora allata of an adult lepidopteran insect. *Manduca sexta* (L.). *Cell Tissue Res.* **232:** 295-317.

Evans, P.D., 1980. Biogenic amines in the insect nervous sysytem. *Avd. Insect Physiol.* **15:** 317-473.

Flanagan, T., 1986. Serotonin-containing, catecholamine-containing and dopamine-sequestering neurones in the ventral nerve cord of the hemipteran *Rhodnius prolixus*. *J. Insect Physiol.* **32:** 17-26.

Gardner, C.R. and R.J. Walker, 1982. The roles of putative neurotransmitters and neuromodulators in annelids and related invertebrates. *Prog. Neurobiol.* **18:** 1-120.

Gersch, M., F. Fischer, H. Unger, and W. Kabitza, 1961. Vorkommen von Serotonin im Nervensystem von *Periplaneta americana* L. (Insecta). *Z. Naturforsch.* **16:** 351-352.

Gerschenfeld, H.M., D. Paupardin-Tritsch, and P. Deterre, 1981. Neuronal responses to serotonin: A second view. *In*: Serotonin Neurotransmission and Behaviour(eds. Jacobs B.L. and A. Gelperin). MIT Press, London, pp. 105-130.

Haigler, J.J. and G.K. Aghajanian, 1974. Lysergic acid diethylamide and serotonin: A comparison of effects on serotoninergic neurons and neurons receiving a serotoninergic input. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **188:** 688-699.

Klemm, N., 1976. Histochemistry of putative transmitter substances in the insect brain. *Prog. Neurobiol.* **7:** 99-169.

Klemm, N. and S. Axelsson, 1973. Determination of dopamine, noradrenaline and 5-hydroxytryptamine in the cerebral ganglion of the desert locust, *Schistocerca gregaria* Forsk. (Insecta, Orthoptera). *Brain Res.* **57:** 289-298.

Klemm, N., R. Hustert, R. Cantera and D.R. N ssel, 1986. Neurons reactive to antibodies aganinst serotonin in the stomatogastric nervous system and in the alimentary canal of locusts and crickets (Orthoptera, Insecta). *Neuroscience* **17:** 247-261.

Konings, P.N.M., H.G.B. Vullings, R. Siebinga, J.H.B. Diederen, and W.F. Jansen, 1988. Serotonin-immunoreactive neurones in the brain of *Locusta migratoria* innervating the corpus cardiacum. *Cell Tissue Res.* **254:** 147-153.

Levine, R.B. and J.W. Truman, 1982. Metamorphosis of the isect nervous system: changes in morphology and synaptic interactions of identified neurones. *Nature* **299:** 250-252.

Nässel, D.R. and R. Cantera, 1985. Mapping of serotonin-immunoreactive neurons in the larval nervous system of the flies *Calliphora erythrocephala and Sarcophaga bullata*. A comparison with ventral ganglia in adult animals. *Cell Tissue Res.* **239:** 423-434.

Nässel, D.R. and K. Elekes, 1984. Ultrastructural demonstration of serotonin-immunoreactivity in the nervous system of an insect (*Calliphora erythrocephala*). *Neurosci. Lett.* **48:** 203-210.

Nässel, D.R. and M. Klemm, 1983. Serotonin-like immunoreactivity in the optic lobes of three insect species. *Cell Tissue Res.* **232:** 129-140.

Nässel, D.R. and L. Laxmyr, 1983. Quantitative determination of biogenic amines and dopa in the CNS of adult and larval blowflies *Calliphora erythrocephala*. *Comp. Biochem. Physiol.* **75:** 259-265.

Nässel, D.R., M. Hagberg, and H.S. Seyan, 1983. A new, possibly serotonergic, neuron in the lamina of the blowfly optic lobe: an immunocytochemical and Golgi-EM study. *Brain Res.* **280:** 361-367.

Osborne, N.N. and V. Neuhoff, 1974. Formation of serotonin in insect (*Periplaneta americana*) nervous tissue. *Brain Res.* **74:** 366-369.

Pecci Saavedra, J., A. Brusco, and C.J. Tandler, 1983. Tetrahydro-β-carboline as the true immunogen in the production of anti-5-HT like antibodies. *Commun. Biol.* **2:** 49-59.

Slowley, B.D. and M.D. Owen, 1982. The effects of recerpine on amine concentrations in the nervous system of the cockroach (*Periplaneta americana*). *Insect Biochem.* **12:** 469-476.

Starrat, A.N. and B.E. Brown, 1975. Structure of the pentapeptide proctolin, a proposed neurotransmitter in insects. *Life Sci.* **17:** 1253-1256.

Steinbusch, H.W.M., 1981. Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat: Cell bodies and terminals. *Neuroscience* **6:** 557-618.

Steinbusch, H.W.M., A.A.J. Verhofstad, and H.W.J. Joosten, 1982. Antibodies to serotonin for neuroimmunocytochemical studies. *J. Histochem. Cytochem.*

30: 756-759.

Steinbusch, H.W.M., A.A.J. Verhofstad, and H.W.J. Joosten. 1983. Antibodies to serotonin for neuroimmunocytochemical studies: methodological aspects and applications. *In*: Immunohistochemistry (ed. Cuello, A.C.). Wiley and Sons, Chichester and New York. pp.193-214.

Tandler, C.J., A. Bursco, S. Peressini, and J. Pecci Saavedra, 1986. Further evidence for the specificity of anti-5-HT (serotonin)-like antisera in immunocytochemistry. *Histochemistry* **85:** 67-72.

Trimmer, B.A., 1985, Serotonin and the control of salivation in the blowfly *Calliphora*. *J. Exp. Biol.* **114:** 307-328.

Tyrer, N.M., J.D. Turner and J.S. Altman, 1984. Identifiable neurons in the locust central nervous system that react with antibodies to serotonin. *J. Comp. Neurol.* **227:** 313-330.

Verhaert, P. and A. De Loof, 1985. Immuno-cytochemical localization of a methionine-enkephalin-resembling neuropeptide in the central nervous system of the American cockroach, *Periplaneta americana* L. *J. Comp. Neurol.* **239:** 54-61.

(Accepted October 30, 1992)

Immunocytochemical mapping of serotonergic neurons in the central nervous system in the larva of *Lucilia illustris*

Kwan-Seon Kim[1], Bong-Hee Lee[2] and Woo-Kap Kim[1] (Dept. of Biology, Korea University[1], Dept. of Biology, Soonchunhyang University[2])

Immunohistochemistry was used to demonstrate the distribution of the serotonin-immunoreactive neurons(5-HTi neurons) in the brain and ventral ganglia of the last larva of the *Lucilia illustris*. The 5-HTi neurons are 28 in cerebral ganglia, 6 in the 1st neuromere of the suboesophageal ganglion, 10 in the 2nd neuromere of the suboesophageal ganglion, 6 in the 3rd neuromere of the suboesophageal ganglion, 6 in the prothoracic ganglion, 4 in mesothoracic ganglion, 4 in metathoracic ganglion, and 4 in each neuromere of the abdominal ganglion except in 8th neuromere having only two 5-HTi neurons respectively. The 5-HTi axons, localized in the central nervous system during larval life, project into neuropils of the ganglia and extensively arborized. Particularly, some of 5-HTi axons contribute to form commissural structures between the two cerebral hemispheres.