

尖唇散白蚁兵蚁和工蚁卵巢和 卵子形态特征的比较*

王云霞^{1**} 苏晓红^{1,2***} 魏艳红¹ 刘 晓¹ 邢连喜¹

(1. 西北大学生命科学学院 西安 710069; 2. 陕西省动物研究所 西安 710032)

摘 要 兵蚁和工蚁是白蚁中的非生殖品级,兵蚁是由工蚁分化产生。为了探讨兵蚁品级性腺不育的原因以及兵蚁和工蚁性腺发育的差异,采用组织学染色观察与测量方法对尖唇散白蚁 *Reticulitermes aculabialis* Tsai et Hwang 的兵蚁和工蚁的卵子发生各阶段进行比较和分析。结果显示:两者性腺发育大小呈极显著性差异 ($P < 0.01$),兵蚁与工蚁卵巢横切面面积之比约为 1:7;兵蚁的卵子发生与工蚁相比,仅有卵母细胞的分化期,没有生长期;兵蚁的卵母细胞比工蚁的小,两者的分化期卵母细胞体积之比约为 1:16。该结果表明工蚁向兵蚁转化过程中性腺进一步退化,兵蚁性腺极度退化使其丧失了成为补充繁殖蚁的可能性。该研究结果为兵蚁不能生殖提供组织学上的证据,同时又揭示了兵蚁和工蚁在潜在生殖能力差异方面的组织学基础。

关键词 白蚁,兵蚁,工蚁,卵子发生,卵巢

Comparative study on the oogenesis between workers and soldiers of *Reticulitermes aculabialis*

WANG Yun-Xia^{1**} SU Xiao-Hong^{1,2***} WEI Yan-Hong¹ LIU Xiao¹ XING Lian-Xi¹

(1. College of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, China;

2. Shaanxi Institute of Zoology, Xi'an 710032, China)

Abstract Soldiers and workers are non-reproductive castes in the termite, *Reticulitermes aculabialis* Tsai et Hwang. Soldiers develop from workers. We used a histological dyeing method to observe the oogenesis of soldiers and workers and to explore the difference in gonad development between these castes and the reason for the soldiers' sterility. The results show that gonad size was significantly different in these two castes ($P < 0.01$) and that the sectional area of workers' ovaries was 7 times that of soldiers. Compared with workers, there was only a differentiation stage in oogenesis in soldiers and no growth stage. Soldiers' oocytes were significantly smaller than those of workers at the differentiation stage; the volume ratio (soldier:worker) being 1:16. These results prove that further degradation of the ovary occurs as workers become soldiers causing soldiers to lose their potential reproductive ability. Our results provide histological evidence for soldiers' sterility, and also show that there is a histological basis for the difference in potential reproductive capacity between soldiers and workers.

Key words termite, soldier, worker, oogenesis, ovary

白蚁是世界上最古老的社会性昆虫,具有极其奇妙而复杂的品级分化(黄复生等,2000)。白蚁品级的决定,并不取决于受精卵的遗传特性,在卵期并不包含决定品级分化的某种特殊的因素,品级分化现象是在卵期以后的发育阶段中才出现

的,称为“非遗传多型性”(Scharf *et al.*, 2003)。在白蚁巢群中,生殖能力差异的分化达到了极端,一部分个体在发育中增强了生殖能力,成为生殖机器即“蚁后和蚁王”;另一部分个体降低了生殖能力或完全不育成为“工蚁和兵蚁”。工蚁虽然自身

* 资助项目:陕西省自然科学基金(2010JM3013)、陕西省教育厅自然科学基金(2010JK849)、西北大学研究生科研实验资助项目(09YSY37)。

** E-mail: wyx19840107@163.com

*** 通讯作者, E-mail: sxhyhy@yahoo.com.cn

收稿日期:2010-07-15, 接受日期:2010-09-28

不育,但是可以根据巢群的需要转化成为补充繁殖蚁和兵蚁。兵蚁是品级分化的终极形式,不再具有品级转化的可塑性(Howard and Haverty, 1979)。兵蚁由工蚁分化而来,在巢群中的比例一般不超过5%,口器特化形成发达的上颚,是巢群的保卫者,除防卫作用外,不从事群体内的其它工作。目前有关工蚁向兵蚁品级分化的激素调节研究较多(Elliott and Stay, 2007; Cornette *et al.*, 2008)。朱蓉等(2009)对尖唇散白蚁 *Reticulitermes aculabialis* Tsai *et* Hwang 工蚁和繁殖蚁的卵子发生进行了比较,发现工蚁卵子发生中只有卵母细胞的分化期和生长期,没有卵黄形成期,而关于兵蚁性腺发育尤其是卵子发生的特点尚未见报道。兵蚁由工蚁发育而来,虽然都是非生殖品级,但是两者的性腺发育是否存在差异?为什么工蚁具有成为补充繁殖蚁的能力,而兵蚁终生不育,没有品级转化的可塑性?本研究的目的是在研究兵蚁卵子发生的水平上,比较兵蚁和工蚁性腺发育,从而探讨在巢群中两者生殖生理功能差异的原因。

1 材料与方法

1.1 尖唇散白蚁的取样和组织处理

实验所用的尖唇散白蚁采自西安市居民楼木地板中,采集时间2009年5月正值长翅繁殖蚁从室内分飞而出。将木地板带回实验室,分离出兵蚁和工蚁,切取腹部放入 Bouin 固定液(苦味酸水饱和溶液15份,40%的福尔马林5份,冰醋酸1份)中过夜,4℃保存。固定好的材料脱水后用石蜡包埋,常规石蜡切片法切片,切片厚度为7 μm,贴在用多聚赖氨酸处理过的载玻片上;以HE染色法(苏木精-苏木精染色)显示卵子发生过程。

1.2 图象与数据分析

组织结构在 Olympus 光镜下观察, Motic Image Plus 2.0 自动图象采集系统测量并拍照。卵巢测量取每个材料切面中最长和最宽的数据作为该卵巢的长和宽;因分化期卵母细胞近圆形,所以兵蚁和工蚁这一时期卵母细胞的大小比较可以直接测量直径进行比较。工蚁生长期卵母细胞的体积采用 $V = \pi r^2 h$ 计算,因卵母细胞呈长椭圆型,作者视其长轴为 h ,短轴为直径。所有数据经 t 检验均符合正态,体积经开平方转化也符合正态,数据处理使用 SPSS16.0 软件,从而解释在巢群中两者生殖

生理功能差异的原因。

2 结果与分析

2.1 兵蚁和工蚁卵巢发育的比较

实验结果显示,与工蚁相比较,兵蚁的卵巢明显萎缩(图版 I:A,B)。测量卵巢组织切片显示,二者卵巢长度之比为2:5,宽度之比为3:8,切面面积之比约为1:7。相关性分析显示各参数均有极显著差异($P < 0.01$)(表1)。

表1 兵蚁与工蚁卵巢大小比较
Table 1 The comparison of gonad size between soldiers and workers

卵巢	长(μm)	宽(μm)	面积(μm ²)
Ovary	Length	Width	Area
兵蚁 Soldier	41.50 ± 2.28	34.61 ± 1.44	1436.44 ± 71.11
工蚁 Worker	106.63 ± 5.57**	93.69 ± 3.30**	989.43 ± 774.89**

注:兵蚁和工蚁的样本量均为15,数据为平均值±标准误,单因子方差分析,数据经 SPSS16.0 软件处理,**表示差异极显著($P < 0.01$)。

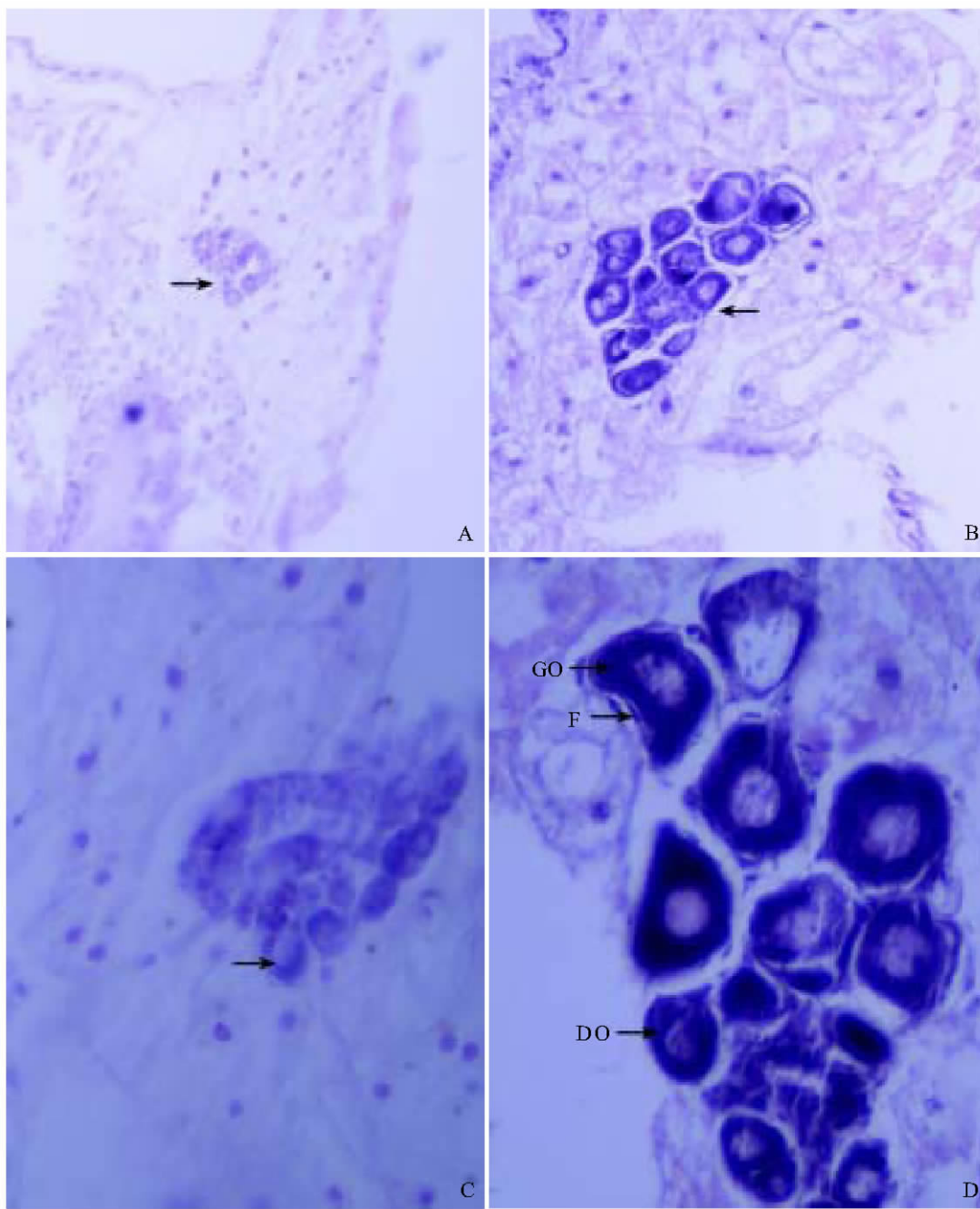
The respective number of soldier and worker is 15, data are expressed as $\bar{x} \pm SE$, and analyzed with SPSS16.0 software. Values in the same column followed by double asterisks are significantly different ($P < 0.01$) (one way ANOVA, t test).

2.2 兵蚁与工蚁卵子发生的比较

作者根据卵母细胞和滤泡细胞的细胞学特征以将尖唇散白蚁繁殖蚁的卵子发生进行了划分,表明白蚁完整的卵子发生包括3个时期:卵母细胞的分化期、生长期和卵黄形成期。根据此划分依据,兵蚁的卵子发生仅有卵母细胞的分化期,即卵母细胞仅发育到第一时期,没有生长期和卵黄形成期(图版 I:C);而工蚁的卵子发生包括卵母细胞的分化期和生长期,生长期卵母细胞外有滤泡细胞包围(图版 I:D)。二者卵子发生过程如表2所示。

另外,本研究还对兵蚁和工蚁分化期卵母细胞的大小进行了比较,二者的分化期卵母细胞的体积存在极显著差异(表3),兵蚁的直径约是工蚁的2/5,兵蚁的体积约是工蚁的1/16,两者呈现极显著差异($P < 0.01$)。

图版 I 尖唇散白蚁兵蚁和工蚁卵巢和卵子形态特征的比较

Plate I Comparative study on the oogenesis between workers and soldiers of *R. aculabialis*

A 兵蚁卵巢(→)×200;B 工蚁卵巢(→)×200;C 兵蚁分化期卵母细胞(→)×400;D 工蚁处于分化期和生长期的卵母细胞;DO:分化期卵母细胞,GO:生长期卵母细胞,F:滤泡细胞,×400。

A Soldier's ovary (→)×200;B Worker's ovary (→)×200;C Oocyte of soldier at the differentiation stage(→)×400;
 D Oocytes of soldiers at the differentiation stage and growth stage. DO:Oocyte at the differentiation stage,
 GO:Oocyte at the growth stage,F:follicle cell,×400.

表 2 兵蚁与工蚁卵子发生过程的比较
Table 2 The comparison of the oogenesis
of soldiers and workers

发育时期 Developmental stages	卵母细胞分化期 Differentiation stage	卵母细胞生长期 Growth stage	卵母细胞卵黄形成期 Yolk forming stage
兵蚁 Soldier	+	-	-
工蚁 Worker	+	+	-

注：“+”表示有该发育时期的卵母细胞，“-”表示无该发育时期的卵母细胞。

“+”: oocyte of this stage exists, “-”: oocyte of this stage is not exist.

表 3 兵蚁与工蚁分化期卵母细胞大小的比较
Table 3 The comparison of oocyte size
at differentiation stage ($\bar{x} \pm s$)

卵母细胞 Oocyte	h (μm) Height	r (μm) Radius	v (μm^3) Volume
兵蚁 Soldier	7.16 $\pm$ 0.35	3.04 $\pm$ 0.13	207.95 $\pm$ 26.80
工蚁 Worker	19.00 $\pm$ 0.67 **	7.63 $\pm$ 0.29 **	3 477.41 $\pm$ 269.26 **

注:兵蚁和工蚁的样本量均为 32,数据为平均值 $\pm$ 标准误,各参数值经 t 检验均符合正态(体积经开平方转化符合正态),单因子方差分析,数据经 SPSS16.0 软件处理,**表示差异极显著($P < 0.01$)。

The respective number of soldier and worker is 32, data are expressed as $\bar{x} \pm SE$, analyzed with SPSS16.0 software. Values in the same column followed by double asterisks are significantly different ($P < 0.01$) (one way ANOVA, t test)

3 讨论

卵子发生是昆虫生活史中非常重要的阶段,尤其在社会性昆虫中更体现了群体内特殊的生存策略(黄复生等,2000)。卵子发生在卵巢内进行,各品级间生殖能力的不同,首先表现为卵巢大小和发育程度的不同。作者的前期研究对繁殖蚁和工蚁的卵巢进行了比较,发现二者的卵巢横切面面积大小呈现显著性差异,再结合本研究的结果即兵蚁和工蚁的卵巢横切面面积之比为 1:7,表明繁殖蚁、工蚁、兵蚁的卵巢横切面面积呈现极显著差异。工蚁和兵蚁的性腺较繁殖蚁退化,兵蚁与工蚁相比性腺进一步退化。因此,兵蚁性腺处

于极度退化状态,是其不能转化为补充繁殖蚁的组织学原因。

在卵子发生层面上,与其它昆虫一样,白蚁繁殖蚁卵子发生依据卵母细胞的生长情况也分为 3 个时期,即卵母细胞的分化期、生长期和卵黄形成期。在卵母细胞分化期,位于卵巢管卵原区的卵母细胞进行第一次减数分裂,细胞体积较小;进入生长期,卵母细胞离开卵原区进入生长区,体积逐渐增大,滤泡细胞形成并包围住卵母细胞;在卵黄形成期卵母细胞开始形成卵黄,并积累大量卵黄球,卵母细胞体积迅速增大直至发育为成熟卵(苏晓红和奚耕思,2004)。作者的研究结果显示兵蚁卵子发生过程中只有卵母细胞的分化期,这一时期的卵母细胞只完成了第一次减数分裂,细胞体积较小,说明其卵子发生仅维持在早期发育状态。对兵蚁和工蚁分化期卵母细胞进行比较的结果是:兵蚁分化期卵母细胞的直径约是工蚁的 $2/5$,体积约是工蚁的 $1/16$,各参数之间的相关性比较均呈现极显著差异($P < 0.01$),这也进一步证明了兵蚁的性腺较工蚁是极度退化的。工蚁的卵子发生可以进行到卵母细胞的生长期,生长期的卵母细胞较分化期的卵母细胞体积大,且周围出现了滤泡细胞。滤泡细胞在卵母细胞的发育中起到信号介导、物质转运和储存的作用;在卵黄形成初期,滤泡细胞可向卵母细胞提供外源性卵黄;在卵黄形成后期,滤泡细胞萎缩退化,变成次级卵膜(堵南山等,1999;姜乃澄等,2001;牟振波等,2008)。所以说工蚁的性腺发育和卵子发生较兵蚁成熟,生长期卵母细胞的形成为工蚁进一步转化为补充繁殖蚁打下了组织学基础。

蜜蜂与白蚁一样都是“非遗传多型性”的社会性昆虫(黄复生等,2000)。目前对社会性昆虫的卵子发生调节机制的研究主要是对其激素变化规律的研究探讨。在蜜蜂的研究中已经发现将保幼激素(juvenile hormone, JH)涂在 5 龄工蜂幼虫表皮上,可以诱导工蜂成为类蜂后。其原因是卵巢管中 S 期细胞核数目增加(表明生殖细胞分裂活跃,数目增加);保幼激素还阻止了卵母细胞 DNA 降解,减少了卵巢管内的细胞凋亡,形成大量的生殖细胞,卵巢管也没有减少,工蜂可以发育成类蜂后(Capella and Hartfelder, 1998; Guidugli - Lazzarini *et al.*, 2008)。目前对于工蚁生殖生理的研究,主要是工蚁向兵蚁和补充繁殖蚁转化过程

中激素的变化规律的研究 (Cornette *et al.*, 2008)。Elliott 和 Stay (2008) 将工蚁从蚁巢中分离饲养, 其中有些工蚁转化成兵蚁和补充繁殖蚁, 检测发现工蚁在蜕变成预兵蚁前体内保幼激素水平降低, 而工蚁发育成补充繁殖蚁时 JH 合成水平增高, 在生殖前 3 周 JH 水平达到最高。因此认为 JH 合成最高时就是性腺发育成熟的开始, JH 与白蚁各品级性腺发育有着直接关系。根据作者的研究, 工蚁蜕皮在向兵蚁转化过程中可能由于 JH 水平降低, 生殖细胞停止发育, 而且卵巢管细胞和卵母细胞开始大量程序化死亡, 导致性腺极度退化; 兵蚁卵巢管中少量的卵母细胞也只能维持在分化期, 不能进一步发育。因此, 工蚁向兵蚁转化的过程是在激素调节下性腺退化的过程。本文首次对尖唇散白蚁工蚁和兵蚁卵子发生进行比较, 从其卵子发生的过程证明了工蚁性腺可以进一步被激素“激活”而发育成为生殖品级, 也可以进一步萎缩退化成为完全没有生殖能力的兵蚁, 为兵蚁不能生殖提供组织学上的证据, 同时又揭示了兵蚁和工蚁在潜在生殖能力差异方面的组织学基础。

参考文献 (References)

- Capella ICS, Hartfelder K, 1998. Juvenile hormone effect on DNA synthesis and apoptosis in caste-specific differentiation of the larval honey bee (*Apis mellifera* L.) ovary. *J. Insect Physiol.*, 44(5-6):385—391.
- Cornette R, Gotoh H, Koshikawa S, Miura T, 2008. Juvenile hormone titers and caste differentiation in the damp-wood termite *Hodotermopsis sjostedti* (Isoptera, Termopsidae). *J. Insect Physiol.*, (54)6:922—930.
- 堵南山, 赖伟, 陈鹏程, 成永旭, 南春容, 1999. 中华绒螯蟹卵黄形成的研究. *动物学报*, 45(1):88—92.
- Elliott KL, Stay B, 2007. Juvenile hormone synthesis as related to egg development in neotenic reproductives of the termite *Reticulitermes flavipes*, with observations on urates in the fat body. *Gen. Comp. Endocr.*, 152(1):102—110.
- Elliott KL, Stay B, 2008. Changes in juvenile hormone synthesis in the termite *Reticulitermes flavipes* during development of soldiers and neotenic reproductives from groups of isolated workers. *J. Insect Physiol.*, 54(2):492—500.
- Guidugli-Lazzarini KR, Nascimento do AM, Tanaka ED, 2008. Expression analysis of putative vitellogenin and lipophorin receptors in honey bee (*Apis mellifera* L.) queens and workers. *J. Insect Physiol.*, 54(7):1138—1147.
- Howard RW, Haverty MI, 1979. Termites and juvenile hormone analogues: a review of methodology and observed effects. *Sociobiology*, 4:269—278.
- 黄复生, 朱世摸, 平正明, 何秀松, 李桂祥, 高道蓉, 2000. 中国动物志, 昆虫纲, 第十七卷, 等翅目. 北京: 科学出版社. 3—39.
- 姜乃澄, 卢建平, 袁保京, 2001. 罗氏沼虾初级卵母细胞在卵黄形成期超微结构的变化. *东海海洋*, 19(1):35—43.
- 牟振波, 徐革锋, 杨双英, 2008. 细鳞鱼卵巢滤泡细胞的发育及功能. *中国水产科学*, 15(1):167—171.
- Scharf ME, Wu-Scharf D, Pittendrigh BR, Bennett GW, 2003. Caste- and development-associated gene expression in a lower termite. *Genome Biology*, 4:62.
- 苏晓红, 奚耕思, 2004. 尖唇散白蚁卵子发生的. *西北大学学报*, 34(3):317—320.
- 朱蓉, 苏晓红, 王云霞, 2009. 尖唇散白蚁工蚁和繁殖蚁卵子发生的比较研究. *昆虫知识*, 46(5):732—737.