

尖唇散白蚁工蚁、兵蚁和繁殖蚁精子发生的比较研究*

苏晓红** 王云霞 魏艳红 阴灵芳

(西北大学生命科学学院 西安 710069)

A comparative study on the spermatogenesis in workers, soldiers and reproductives of the termite *Reticulitermes aculabialis*. SU Xiao-Hong**, WANG Yun-Xia, WEI Yan-Hong, YIN Ling-Fang** (College of Life Sciences, Northwest University, Xi'an 710069, China)

Abstract A histological dyeing method was used to observe the testes and spermatogenesis in all castes of the termite *Reticulitermes aculabialis* Tsai et Hwang. The results show that the sectional area of the testes of reproductive individuals was 1.7 times bigger than that of workers and 29.3 times bigger than that of soldiers. The sectional area of workers' testes was 17.1 times that of soldiers'. There were spermatozoa in the testicular follicles of both reproductives and workers, however, the worker testes had more apoptotic spermatocytes. In the soldier caste, the process of spermatogenesis included only the spermatogonia, primary spermatocyte and secondary spermatocyte stages; no spermatids or spermatozoa were observed. The germ cells of workers and soldiers were significantly smaller than those in reproductives at the same stage of spermatogenesis. The results suggest that the differentiation of reproductive function in this termite is directly correlated with gonad development. Workers can differentiate into neotenic reproductives or soldiers, but, due to the extreme degradation of the testes, the soldier caste does not have the ability to become other castes.

Key words termite, testes, spermatogenesis, workers, soldiers

摘 要 为探讨白蚁非生殖品级和生殖品级生殖细胞发育差异,采用组织学染色技术对尖唇散白蚁 *Reticulitermes aculabialis* Tsai et Hwang 繁殖蚁、工蚁和兵蚁的精巢发育以及精子发生进行了显微观察和比较研究。结果发现 3 个品级间精巢发育的程度差异很大,三者精巢切面面积相对大小之比为:繁殖蚁:工蚁 = 1.7:1;繁殖蚁:兵蚁 = 29.3:1;工蚁:兵蚁 = 17.1:1。繁殖蚁和工蚁精巢管内有精子的形成,工蚁和繁殖蚁精子的发生都经历了精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精细胞和精子时期,但工蚁有大量次级精母细胞呈细胞凋亡状态。兵蚁生殖细胞发育仅有精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞,没有精细胞和精子产生。工蚁的生殖细胞显著小于同一时期繁殖蚁的生殖细胞,兵蚁的各时期生殖细胞均极显著小于繁殖蚁同一时期的生殖细胞。研究表明各品级之间生殖功能分化与生殖细胞发育有直接关系,工蚁有转化为补充繁殖蚁和兵蚁的能力;而兵蚁由于精巢极度退化不能产生精细胞和精子,因此是非生殖品级分化的终极形式,不具有转化成补充繁殖蚁或其它品级的能力。

关键词 白蚁,精巢,精子发生,工蚁

性腺发育是昆虫生活史中非常重要的阶段,尤其在社会性昆虫中体现着种群内特殊的生存策略。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”。白蚁各个品级中虽然有雌、雄两性之分,但生殖系统发育完全的只见于繁殖蚁;

* 资助项目:陕西省自然科学基金研究项目 2010JM3013、陕西省教育厅自然科学专项基金(2010JK849)。

** E-mail: sxhyhy@yahoo.com.cn

收稿日期:2010-04-22,修回日期:2010-05-18

非生殖型的兵蚁和工蚁虽然在早期有正常发育的精巢和卵巢,但随着龄期的增长而退化,没有生殖功能^[1]。

近年来对昆虫精子发生方面的研究报道比较多^[2,3],而对白蚁不同品级间生殖细胞发育的差异尚未见研究报道。工蚁是巢群内数量最多的品级,工蚁虽然自身不育,但可以根据巢群的需要转化成兵蚁和补充繁殖蚁。兵蚁是由工蚁发育形成,在成熟群体中仅占 1% ~ 2%,不具有转化成其它品级的能力^[4]。在低等白蚁的成熟群体中,原始繁殖蚁(蚁王和蚁后)死亡的情况下,个别工蚁的性腺发育而成为补充繁殖蚁,承担维持种群延续的功能。工蚁的不育以及“可变性”与其性腺发育有直接关系,因此可以从生殖细胞发育的角度来探讨各品级之间生殖功能分化的原因。目前对于白蚁生殖生理的研究,主要是工蚁向兵蚁和补充繁殖蚁转化过程中的激素变化规律^[5,6],有关工蚁、兵蚁和繁殖蚁精巢发育和精子发生比较并未见相关报道。尖唇散白蚁 *Reticulitermes aculabialis* Tsai et Hwang 是我国广布性重要危害种,具有复杂的品级分化途径,尤其是工蚁经过蜕皮可以转化为补充繁殖蚁,也可以发育成为兵蚁,三个品级之间生殖细胞发育有何差异目前还不清楚。本研究的目的是比较尖唇散白蚁工蚁、兵蚁和繁殖蚁的精巢发育以及精子发生,为揭示三者不同的生殖功能和品级分化机理提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料与组织染色

尖唇散白蚁采自西安市居民楼一层木地板内。5 月初室内有大量长翅繁殖蚁飞出,将带有大量白蚁的木质地板带回实验室备用。采集的尖唇散白蚁在解剖镜下选取雄性切取腹部放入新配制的 Bouin 液固定 12 h。系列酒精脱水,石蜡包埋,连续纵切,切片厚度 7 μm ,贴于涂有多聚赖氨酸的载玻片上。用 HE 染色方法显示精巢及精子发生的过程。

1.2 图像与数据分析

用 Motic Image Plus 2.0 自动图像采集系

统观察测量并拍照。对繁殖蚁、工蚁和兵蚁 3 个品级的精巢最大切面面积测量并比较;对精子发生各个阶段的细胞的最大切面面积进行测量计算,对大小差异做了显著性分析。由于各个时期的生殖细胞近似圆形(其误差可忽略不计),切面面积根据圆的面积计算公式 $S = \pi r^2$ 计算,应用单因子方差分析, LSD 检测分析比较各品级生殖细胞的差异。

2 结果与分析

2.1 繁殖蚁、工蚁和兵蚁精巢发育

3 个品级都有精巢,精巢由精巢小管组成,在精巢小管中可以看到生殖细胞的发育过程。在显微镜下可以明显观察到 3 个品级间精巢发育的程度差异很大(图版 I:1 ~ 3),在连续切片中测量最大精巢切面面积,并进行比较得出三者精巢相对大小之比为:繁殖蚁:工蚁 = 1.7:1;繁殖蚁:兵蚁 = 29.3:1;工蚁:兵蚁 = 17.1:1。

2.2 繁殖蚁、工蚁和兵蚁精子发生过程

繁殖蚁和工蚁精巢管内有精子的形成(图版 I:1 ~ 2),而兵蚁精巢内没有产生精子(图版 I:3)。工蚁(图版 I:5)和繁殖蚁(图版 I:4)精子的发生都经历了:精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精细胞和精子。工蚁的精巢中,有大量次级精母细胞的核染色质缩小凝集成新月状;繁殖蚁的次级精母细胞核内染色质凝集为圆形。兵蚁生殖细胞发育仅有:精原细胞、初级精母细胞和次级精母细胞(图版 I:6)。

2.3 繁殖蚁、工蚁和兵蚁精子发生各个阶段生殖细胞切面面积大小的比较

测量结果如表 1 所示。精原细胞时期:工蚁的精原细胞显著小于繁殖蚁的精原细胞,兵蚁精原细胞的切面面积约是繁殖蚁的 1/4,呈极显著差异;初级精母细胞时期:工蚁的生殖细胞仍显著小于同一时期繁殖蚁的生殖细胞,兵蚁的生殖细胞约是繁殖蚁的 1/2,有极显著差异;次级精母细胞时期:工蚁和兵蚁的生殖细胞均极显著小于繁殖蚁的生殖细胞;在精细胞

时期,繁殖蚁生殖细胞的面积约是工蚁的 2 倍,极显著的大于该时期工蚁的生殖细胞;最终形成的精子中,繁殖蚁的精子显著大于工蚁的精子。兵蚁没有精细胞和精子阶段。

表 1 繁殖蚁、工蚁和兵蚁精子发生各个阶段细胞面积的差异变化

品级类型	精原细胞 (μm ²)	初级精母细胞 (μm ²)	次级精母细胞 (μm ²)	精细胞 (μm ²)	精子 (μm ²)
繁殖蚁	4.82 ± 0.03	6.82 ± 0.56	6.76 ± 0.27	2.10 ± 0.34	0.71 ± 0.08
工蚁	3.70 ± 0.51 [*]	5.19 ± 0.53 [*]	4.95 ± 0.53 ^{**}	0.95 ± 0.04 ^{**}	0.50 ± 0.01 [*]
兵蚁	1.33 ± 0.20 ^{**}	2.93 ± 0.22 ^{**}	1.71 ± 0.22 ^{**}		

注:数据为平均值 ± 标准误,单因子方差分析,LSD 检测。“*”表示差异显著(P < 0.05),“**”表示差异极显著(P < 0.01)。

3 讨论

工蚁和兵蚁与繁殖蚁一样都有精巢,在精巢小管内有生殖细胞的发育。尖唇散白蚁繁殖蚁精子发生与其它已经报道的昆虫一样可以划为 5 个时期:精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精子细胞和精子,这是繁殖蚁的精子在精巢小管内必须完成的发生过程。工蚁也具有完整的精子发生过程,在精巢小管中精原细胞经过初级精母细胞、次级精母细胞和精子细胞阶段形成精子,意味着工蚁虽然精巢萎缩但仍可以形成精子,这与雌性工蚁卵子发生的特点有显著不同。工蚁与繁殖蚁卵子发生相比,工蚁的卵子发生仅包括卵母细胞分化期和生长期,而无卵黄形成期,研究认为工蚁卵子发生中不能形成卵黄是导致其没有生殖能力的直接原因^[7];而雄性工蚁从精子发生过程的完整性分析,具有产生正常精子的可能性。与工蚁相比,兵蚁不仅精巢更为退化,而且兵蚁精子发生过程中只经过精原细胞期,初级精母细胞期和次级精母细胞期,没有精细胞和精子的形成。兵蚁性腺不能形成精子为其不能生殖提供了组织学依据。生殖细胞的发育特征也证实了兵蚁品级的生物学特征,即兵蚁是由工蚁经过蜕皮发育形成的非生殖品级,是非生殖品级分化的终极形式^[8],不具有转化成补充繁殖蚁或其它品级的能力。

对精巢发育和精子发生的各个阶段进行对比结果表明,工蚁和兵蚁的精巢明显小于繁殖蚁的精巢。工蚁精巢的发育显然优于兵蚁,兵蚁精巢极度萎缩退化仅为工蚁的 1/17。兵蚁

精巢小管内不仅没有精细胞和精子的形成,而且精原细胞和精母细胞从大小和数量上也与工蚁和繁殖蚁相比有极显著差异。从生殖细胞发育情况进行比较,工蚁虽然能完成精子发生的过程形成精子,但是与繁殖蚁相比,其发育各时期的生殖细胞都明显要小,尤其精细胞的大小与繁殖蚁相比有极显著差异。在精子发生过程中,生殖细胞的凋亡水平升高通常发生在有丝分裂和减数分裂发生的高峰阶段^[9]。结果显示繁殖蚁次级精母细胞核内染色质饱满,而工蚁很多次级精母细胞的核内染色质呈月牙形萎缩状态,这是细胞凋亡的显著特征,工蚁精子发生中的细胞凋亡主要发生在次级精母细胞减数分裂时期。在这一点上,工蚁精子发生与其卵子发生的特点非常相似。与繁殖蚁卵子发生相比,工蚁的卵母细胞均显著小于繁殖蚁同一时期的卵母细胞;而且工蚁的卵母细胞在生长期出现形态不规则现象,同时滤泡细胞开始萎缩、退化,变成长条状。工蚁的卵母细胞和滤泡细胞有提前退化和凋亡的现象^[7]。工蚁可以产生精子,但是精子在发育过程中与繁殖蚁有明显形态学上的差异,呈现出退化趋势。因此,工蚁的精子是否能与卵子受精具有生殖活性还需要进一步研究。Capella 和 Hartfelder^[10]及 Tanaka 和 Hartfelder^[11]对蜜蜂研究发现:蜂后卵巢管中的生殖细胞经过有丝分裂数目大增,卵巢管在发育的过程中数量增至 200 条;而工蜂卵巢中大多数卵巢管出现程序化的细胞死亡,导致卵巢管数量减少至几条,而且本质上是不育的。白蚁与蜜蜂一样都为“非遗传多型性”的社会性昆虫,从尖唇散白蚁非繁殖蚁与

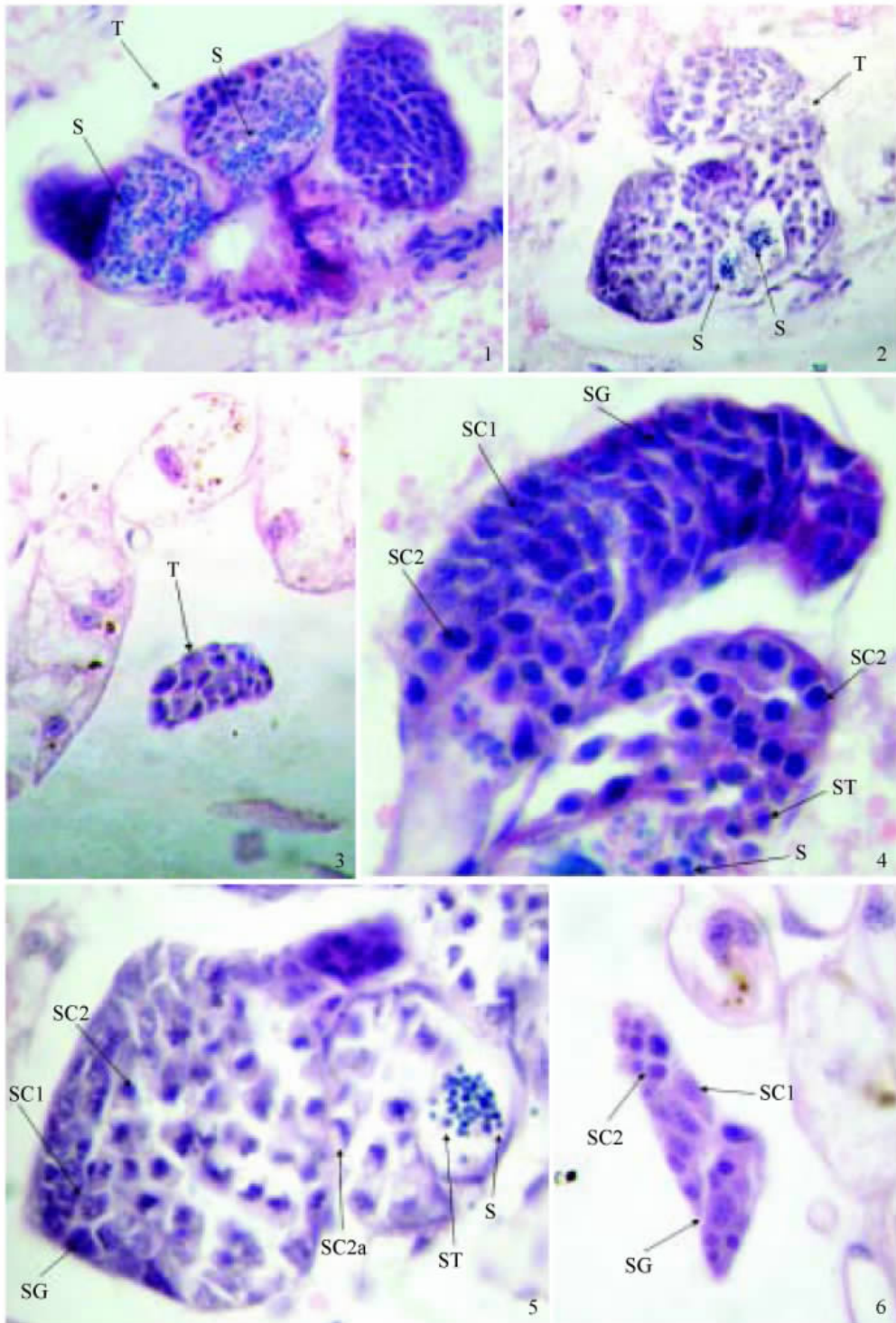
繁殖蚁的比较可以看出,工蚁的精巢和生殖细胞在发育中受到抑制或出现程序化的细胞凋亡,但仍可以维持少量的精子形成,以便可以在群体需要的情况下发育成补充繁殖蚁,或个别工蚁精巢进一步退化不能产生精子而成为兵蚁。

低等白蚁的品级分化相当复杂,工蚁有转化为补充繁殖蚁和兵蚁的能力,而繁殖蚁和兵蚁不能转化成其它品级,可见工蚁在巢群中处于灵活且重要的地位^[12,5]。目前已经有研究表明白蚁品级分化发育主要靠保幼激素(juvenile hormone, JH)调节控制,各品级之间体内 JH 水平存在差异。工蚁向补充繁殖蚁和兵蚁转化过程中的 JH 滴度呈现一定的变化规律,表明 JH 是促进工蚁性腺从抑制状态进一步发育成熟成为补充繁殖蚁或进一步退化成为兵蚁的关键因素^[5,6]。对蜜蜂的工蜂研究已经发现 JH 可以阻止卵母细胞内 DNA 降解,减少卵巢管内细胞的凋亡,促进形成大量的生殖细胞^[10]。作者首次对白蚁非生殖品级和生殖品级性腺和生殖细胞发育进行比较,从尖唇散白蚁工蚁、兵蚁和繁殖蚁精子发生的特点证明了工蚁具有在激素调节下发育成为生殖品级的组织学结构基础,也可以进一步萎缩退化成为完全没有生殖能力的兵蚁,为工蚁具有可以根据群体发展需要而向两个极端品级转化的能力提供了形态学证据。

参 考 文 献

- 1 黄复生,朱世模,平正明,等.《中国动物志》(昆虫纲,第十七卷,等翅目).北京:科学出版社,2000.33~39.
- 2 吴畏,赵云龙.蟋蟀雄性生殖系统的结构和精子发生.上海师范大学学报,2002,31(2):74~78.
- 3 蔡东章,白素芬,李欣,等.小菜蛾精子发生的形态学观察.河南农业大学学报,2008,46(5):210~215.
- 4 Haverty M. I.,Howard R. W. Production of soldiers and maintenance of soldier proportions by laboratory experimental groups of *Reticulitermes flavipes* (Kollar) and *Reticulitermes virginicus* (Banks) (Isoptera: Rhinotermitidae). *Insectes Sociaux*,1981,28:332~339.
- 5 Elliott K. L.,Stay B. Changes in juvenile hormone synthesis in the termite *Reticulitermes flavipes* during development of soldiers and neotenic reproductives from groups of isolated workers. *Journal of Insect Physiology*,2008,54(2):492~500.
- 6 Cornette R.,Gotoh H.,Koshikawa S. Juvenile hormone titers and caste differentiation in the damp-wood termite *Hodotermopsis sjostedti* (Isoptera, Termopsidae). *Journal of Insect Physiology*,2008,54(6):922~930.
- 7 朱蓉,苏晓红,王云霞.尖唇散白蚁工蚁和繁殖蚁卵子发生的比较.昆虫知识,2009,46(5):732~735.
- 8 Park Y. I.,Raina A. K. Juvenile hormone III titers and regulation of soldier caste in *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Journal of Insect Physiology*,2004,50:561~566.
- 9 Heninger N. L.,Staub C.,Blanchard T. L. Germ cell apoptosis in the testes of normal stallions. *Theriogenology*,2004,62(1):283~297.
- 10 Capella I. C. S.,Hartfelder K. Juvenile-hormone-dependent interaction of actin and spectrin is crucial for polymorphic differentiation of the larval honey bee ovary. *Cell Tissue Res.*,2002,307(2):265~272.
- 11 Tanaka E. D.,Hartfelder K. The initial stages of oogenesis and their relation to differential fertility in the honey bee (*Apis mellifera*) castes. *Arthropod Struct. Dev.*,2004,33(4):431~442.
- 12 唐国清,刘源智,黑胸散白蚁补充型生殖蚁的产生及发育的观察.昆虫学报,1990,33(1):43~48.

图版 I



1. 繁殖蚊的精巢(T→)以及精巢小管中的精子(S→), $\times 400$; 2. 工蚊的精巢(T→)以及精巢小管中的精子(S→), $\times 400$; 3. 兵蚁的精巢(T→),精巢中没有精子, $\times 400$; 4. 繁殖蚊精巢中的精原细胞(SG→)、初级精母细胞(SC1→)、次级精母细胞(SC2→)、精细胞(ST→)和精子(S→), $\times 1\,000$; 5. 工蚊精巢中的精原细胞(SG→)、初级精母细胞(SC1→)、次级精母细胞(SC2→)、精细胞(ST→)和精子(S→); 凋亡的次级精母细胞(SC2a→), $\times 1\,000$; 6. 兵蚁的精原细胞(SG→)、初级精母细胞(SC1→)、次级精母细胞(SC2→), $\times 1\,000$ 。