

圆唇散白蚁补充生殖蚁发育过程中的卵黄蛋白原基因的表达及卵子发生*

张小晶** 薛薇 刘鹤 陈娇玲 邢连喜 苏晓红***

(西北大学 生命科学学院, 西安 710069)

摘要 【目的】研究圆唇散白蚁 *Reticulitermes labralis* (Hsia) 补充生殖蚁分化及发育过程中卵黄蛋白原 (Vitellogenin, Vg) 基因的表达、卵母细胞的发育以及子代品级分化。【方法】通过使用实时定量 PCR (Real-time quantitative polymerase chain reaction) 技术测定补充生殖蚁从分化到产卵的过程中 Vg 基因相对表达量的动态变化; 采用组织染色的方法进行卵母细胞发育阶段的观察; 对子代的数量及分化进行统计分析。【结果】补充生殖蚁发育过程中, Vg 基因表达呈现先升高后降低的动态变化模式。在补充生殖蚁分化后的第 10 天开始形成具卵黄的卵母细胞, 在 20 d 时具卵黄卵母细胞的数量达到最高值。第 1 个月至第 3 个月, 补充生殖蚁的产卵数逐渐增加, 分别为 (2.45 ± 1.43) 、 (7.68 ± 2.53) 和 (12.10 ± 7.09) 粒。第 3 个月, 巢内开始出现幼蚁, 数量为 (5.15 ± 2.41) 头; 第 10 个月, 巢群内有工蚁、前兵蚁和兵蚁的分化, 分别为 (17.03 ± 2.28) 、 (1.45 ± 0.31) 和 (0.79 ± 0.18) 头。【结论】在新建巢群中, 若蚁的分化在工蚁和兵蚁分化之后。圆唇散白蚁若蚁在巢群需要的时候, 可以在很短的时间内转化为补充生殖蚁; Vg 基因的表达水平与卵母细胞的卵黄形成相关, Vg 基因表达量的增加启动了卵母细胞的卵黄摄取过程。虽然单个补充生殖蚁产卵量不如单个原始生殖蚁的多, 但是在一个巢内补充生殖蚁总的产卵数目要远远超过原始生殖蚁, 因为补充生殖蚁的数量比原始生殖蚁的数量多。因此补充生殖蚁对巢群稳定和发展具有重要作用。

关键词 白蚁, 补充生殖蚁, 卵黄蛋白原基因, 卵母细胞, 实时定量 PCR

Vitellogenin gene expression and oogenesis during the development of the neotenic reproductive caste of *Reticulitermes labralis*

ZHANG Xiao-Jing** XUE Wei LIU He CHEN Jiao-Ling XING Lian-Xi SU Xiao-Hong***

(College of Life Sciences, Northwest University, Xi'an 710069, China)

Abstract [Objectives] To study Vitellogenin (Vg) gene expression and oocyte development in the neotenic reproductive caste of *Reticulitermes labralis* (Hsia). [Methods] Vitellogenin gene expression was measured using Real-time quantitative polymerase chain reaction (PCR) during the development of individuals of the neotenic reproductive caste and oogenesis was observed with the histological dyeing method. [Results] The level of Vg gene expression initially increased, then declined during development. There were vitellogenic oocytes in the ovarioles on day 10 of development, and development had reached the late vitellogenesis stage on day 20. From the first to the third month, the mean number of eggs laid by members of the neotenic reproductive caste was (2.45 ± 1.43) , (7.68 ± 2.53) and (12.10 ± 7.09) , respectively. Larvae had hatched by the third month; the mean number of larvae was (5.15 ± 2.41) . Workers, pre-soldiers and soldiers had developed by the tenth month, the mean numbers of these castes were (17.03 ± 2.28) , (1.45 ± 0.31) and (0.79 ± 0.18) , respectively. [Conclusion] Nymphs differentiate later than workers and soldiers in initial colonies and can quickly develop into the neotenic reproductives when required. The level of Vg gene expression is related to the development of vitellogenic oocytes and an increase in Vg gene expression starts the process of vitellogenin uptake in oocytes. Although the mean number of eggs laid by individual members

* 资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金 (31370428); 陕西省教育厅自然科学基金 (2013JK0715)

**第一作者 First author, E-mail: 602823272@qq.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: sxhnuw@nwu.edu.cn

收稿日期 Received: 2015-05-01, 接受日期 Accepted: 2015-07-12

of the neotenic reproductive caste is less than that laid by one primary reproductive, because the number of neotenic reproductives is far more than the single primary reproductive in each colony, the total number of eggs laid by neotenic reproductives far exceeds that produced by primary reproductives. Neotenic reproductives are therefore important to the growth of colonies.

Key words termites, neotenic reproductives, vitellogenin gene, oocyte, Real-time quantitative PCR

社会性昆虫由于个体之间的分化和相互作用构成了复杂的品级结构,群体内形成明确的品级形式以执行完全不同的任务。白蚁按照其生理机能分为三个品级:生殖蚁、工蚁和兵蚁。生殖品级有原始生殖蚁和补充生殖蚁。原始生殖蚁是由末龄若蚁羽化成长翅成虫,分飞出原巢独立建立新巢成为原始蚁王和蚁后,它们是群体的创建者;当原始生殖蚁死亡或生殖能力不足的时候,巢内产生补充生殖蚁来维持蚁巢生存和扩张。补充生殖蚁包括由若蚁分化来的翅芽型生殖蚁和工蚁分化来的无翅芽型生殖蚁。在成熟巢中,补充生殖蚁主要由若蚁分化产生。刘明花等(2014)在野外解剖了 5 个圆唇散白蚁 *Reticulitermes labralis* (Hisa) 巢,其中 4 个巢内没有原始生殖蚁,由多个补充生殖蚁承担繁衍后代的任务,最多达 689 头补充生殖蚁。通常成熟蚁群在蚁巢周围的不同觅食点会形成新群体,补充生殖蚁成为这个隔离群体的蚁王和蚁后(Thorne *et al.*, 1999; Roisin, 2006)。隔离建群不受时间、季节和温度的限制,只要存在隔离条件,随时都可以形成新的群体向外扩散。北美散白蚁 *R. flavipes* 扩散和传播主要就是通过大量的补充生殖蚁,白蚁的成功扩散与补充生殖蚁的比例有很大的关系(Clément, 1981; Vieau, 2001)。

雌性生殖个体是否发育成熟是以具卵黄卵母细胞的出现为标志。卵黄蛋白原(Vitellogenin, Vg)是由脂肪体合成并分泌到血淋巴中,由发育的卵母细胞选择性地摄取而成为卵黄蛋白。根据个体生殖周期脂肪体会定期地受激素刺激而产生卵黄蛋白原,而后有卵黄形成作用发生,尤其是血淋巴中的保幼激素(Juvenile hormone, JH)对脂肪体组织中的卵黄蛋白原基因表达有诱导作用,并能刺激和促进卵母细胞的卵黄发生(Nijhout, 1994; Hartfelder, 2000)。因此,卵

黄蛋白原基因表达水平的动态变化能够反映生殖个体生殖周期内的生理变化。

散白蚁是世界性分布的白蚁类群,其品级分化的可塑性以及对建筑危害造成的经济损失,都促使学者对它的发育进行研究。目前对于补充生殖蚁分化和发育过程中的性腺发育和卵黄基因表达研究的很少。本研究以圆唇散白蚁为材料,研究了补充生殖蚁从分化到产卵的过程中的卵黄蛋白原基因表达水平的动态变化、卵子发生过程以及子代品级分化,揭示补充生殖蚁的生殖能力以及对巢群扩张中的重要作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料和样品制备

本实验所用的圆唇散白蚁于 2012 年 4 月采集于陕西省西安市大兴善寺,将含蚁巢的腐木带回放置在西北大学所建的白蚁房中,盖上湿润的泥土进行野外培养。8 月份野外的圆唇散白蚁巢内开始出现末龄若蚁,为了在实验室条件下获得补充生殖蚁,将末龄若蚁和工蚁从原巢中分离出来,以 1 只雌性末龄若蚁和 10 只工蚁为一组(NW)放入 30 mL 装有松树锯末的透明小瓶中,于 25℃ 的黑暗培养箱中饲养并定期补充水分(500 组重复)。

圆唇散白蚁 NW 组中的末龄若蚁转化为补充生殖蚁的第 0 (正在进行蜕皮)、5、10、15、20 天,以及当巢里发现卵粒时取样,用液氮速冻并在 -80℃ 条件下保存用于 RNA 的提取。

1.2 组织染色

将若蚁和补充生殖蚁个体用新配制的 Bousin 液固定,4℃ 下 24 h 过夜。进行一系列的酒精梯度脱水后,石蜡包埋过夜,进行纵切,制成 7 μm 的常规石蜡切片,最后用苏木精和曙红

染色。在显微镜下观察个体卵母细胞发育情况, 并统计具卵黄卵母细胞的数目。

1.3 cDNA 的制备

将储存于 -80°C 的末龄若蚁和不同发育时期的补充生殖蚁样本去除肠道, 留下脂肪体和表皮, 用 FastPure RNA Kit (TaKaRa) 按照 Total RNA Isolation System 试剂盒推荐方法提取各时期补充生殖蚁的总 RNA, 补充生殖蚁每个时期制备 3 个重复的 RNA 样品。DNase 处理后, 提取的总 RNA 用分光光度计在波长为 230、260 和 280 nm 条件下测定其质量和含量。对于单链 cDNA 的合成, DNase 处理的 RNA (60 ng) 用 oligo-dT₁₅ 引物和 Superscript II First 反转录酶 (Invitrogen, CA, USA) 室温下孵育 10 min 后于 37°C 30 h 进行反转。

1.4 实时定量 PCR

实时定量 PCR 操作参照的方法 (Scharf *et al.*, 2003; Maekawa *et al.*, 2010; Shimada and Maekawa 2010) 并以 beta-actin 上游引物: AGC GGG AAA TCG TGC GTG AC, 下游引物: CAA TGG TGA TGA CCT GGC CAT) 为内参基因, 因为此基因被评价为北美散白蚁最可靠的内参基因 (Scharf *et al.*, 2005; Zhou *et al.*, 2007)。Vg I 基因的引物设计由生工生物工程 (上海) 股份有限公司根据北美散白蚁 Vg I 核酸序列设计 (Accession No. BQ788169, 上游引物: CCT ACA TGC GTT GTT GAT GG; 下游引物: TGA CGA CTA TGC ACT CCA GC; 退火温度 62°C)。

cDNAs 的相对定量以 SYBR Green I 和罗氏-480 检测系统 (Roche diagnostics, Swit) 检测。每个反应体系 (总体积 20 μL) 含 10 μL SYBR Green I 标记混合物、上下游引物 (200 nmol/L) 各 0.8 μL 、0.4 μL ROX 内参染料、6 μL RNase 自由水和 2 μL 的 cDNA 模板。目的基因和内参基因片段的扩增温度条件为: 95°C 变性 5 min, 40 循环 (95°C 30 s, 62°C 40 s), 最后 62 延伸 30 s。所有试验重复 3 次数据采用罗氏-480 自带系统进行 CT 值相对定量分析, 每个时期白蚁样

品重复 3 次, 不同时期的补充生殖蚁的 Vg 基因相对表达量的显著性差异用软件 SPSS16.0 进行分析。

1.5 图像与数据分析

Microsoft Office 2007 的 Excel 整理和处理数据, 每巢群中的个体数以平均值 $\pm$ 标准差表示。Motic 显微镜观察性腺的切片结构, 并用 Motic Image Plus2.0 自动图像采集系统拍照。实验结果中的各组数据通过 SPSS16.0 进行显著性分析 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 形态特征

末龄若蚁体色为乳白色、长翅芽、身体色素沉积和角质化程度低, 头部没有深棕色条纹状的色素带, 经过一次蜕皮就会成为补充生殖蚁 (图 1:A)。补充生殖蚁虽然也具有翅芽, 但是翅芽基部为深棕色, 体色为浅棕色, 头部有深棕色条纹带, 成熟的雌性补充生殖蚁, 节间膜延伸, 腹部膨大 (图 1:B)。培养组中末龄若蚁在 1 周后开始转化, 9 周内全部转化为补充生殖蚁。

2.2 补充生殖蚁发育过程中的 Vg 基因相对表达量

实时定量 PCR 实验的结果表明, 不同发育时期的卵黄蛋白原基因表达量不同。每个基因 (vitellogenin I 和 beta-actin) 在溶解曲线上只观察到单一峰 (图 2), 表明目标 PCR 产物选择性表达, 无引物二聚体及其他产物形成。

自然巢群的若蚁的卵黄蛋白原基因相对表达量为 0.0102 ± 0.0025 。若蚁正在向生殖蚁转化蜕皮时, 卵黄蛋白原基因表达量为 0.0358 ± 0.0269 ; 第 5 天的 Vg 基因相对表达量虽然升高, 但与第 0 天、第 20 天及产卵时 (初次产卵时间为第 22 天) 没有显著性差异 (P 值分别为 0.088、0.222 和 0.083)。生殖蚁的卵黄蛋白原基因表达量在 0~15 d 时逐渐增加, 第 10 天与第 5 天 Vg 基因相对表达量有显著性差异 ($P=0.025$); 第 15 天 Vg 基因相对表达量比第 10 天显著增加了

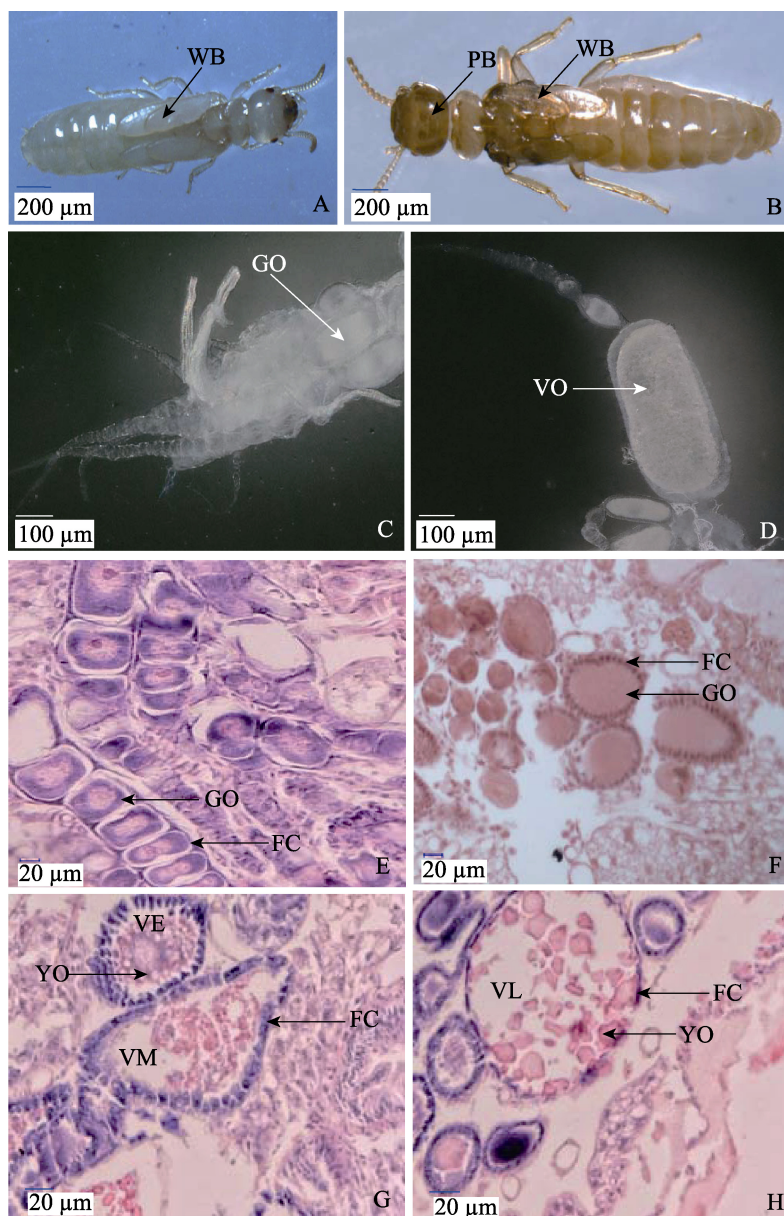


图 1 末龄若蚁和补充生殖蚁的形态以及卵子发生

Fig. 1 Oogenesis during the neotenic reproductive development

A. 末龄若蚁；B. 补充生殖蚁；C. 末龄若蚁的卵巢；D. 生殖蚁的卵巢；E. 自然巢群中的末龄若蚁卵子发生处于卵母细胞生长阶段，卵母细胞被一层滤泡细胞包围；F. 第 5 天的生殖蚁，滤泡细胞之间出现空隙，这是卵黄摄入的通道；G. 第 10 天的生殖蚁，卵子发生处于卵黄形成早期，具有具卵黄的卵母细胞；H. 第 20 天的生殖蚁，卵母细胞发育至卵黄形成末期，被细长的滤泡细胞包围。

WB：翅芽；PB：色素沉积带；GO：生长期卵母细胞；VO：具卵黄卵母细胞；FC：滤泡细胞；YO：卵黄；VE：卵黄发生早期的卵母细胞；VM：卵黄发生中期的卵母细胞；VL：卵黄发生末期的卵母细胞。

A. Last instar nymph; B. Neotenic reproductive; C. The ovary of the last instar nymphs; D. The ovary of the neotenic reproductives; E. The development of oocytes in the last instar nymphs remained at oocyte growth stage and oocytes were surrounded by the follicle cells in natural colonies; F. On day 5 of the neotenic reproductive development, there were lacunas between follicle cells; G. On day 10 of the neotenic reproductive development, the development of oocytes was at the stage of early vitellogenesis; H. On day 20 of the neotenic reproductive development, the oocytes at the late vitellogenesis stage were surrounded by elongated follicle cells.

WB: Wing bud; PB: Pigment sediment; GO: Oocyte growth stage; VO: Oocyte vitellogenesis stage; FC: Follicle cells; YO: Yolk; VE: The stage of early vitellogenesis; VM: The stage of mid-vitellogenesis; VL: The stage of late vitellogenesis.

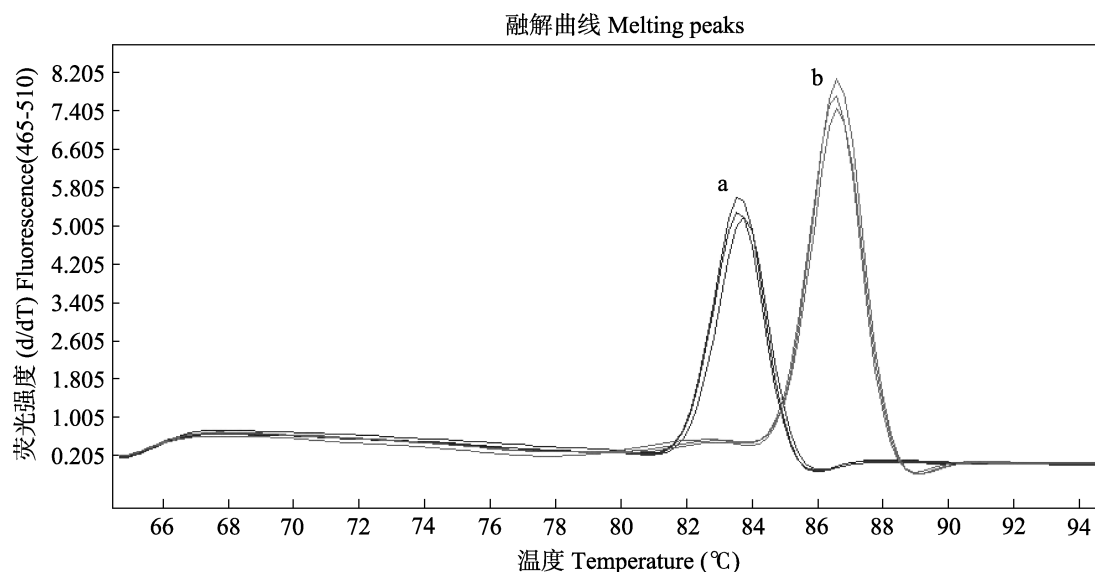


图 2 卵黄蛋白原基因表达融解曲线

Fig. 2 Melting peaks of vitellogenin gene expression

a、b 曲线分别代表 beta-actin 和 vitellogenin I 基因, 在融解曲线上有单一峰, 每个样本重复 3 次。beta-actin 基因为内参基因。

a, b is beta-actin gene and vitellogenin gene, respectively. There is a single peak in melting peaks and each sample replicated three times. Beta-actin is the reference gene.

167.7%, 达到最高值 0.6811 ± 0.1215 ($P=0.000 < 0.01$)。蜕皮后 20 d, 卵黄蛋白原基因表达量为 0.1790 ± 0.0398 , 降低了 279.9% ($P < 0.01$), 接近第 5 天的水平。生殖蚁产卵之后, 卵黄蛋白原基因表达量降到最低值为 0.0243 ± 0.0104 , 与第 0 天的表达量接近 ($P=0.822$) (图 3)。

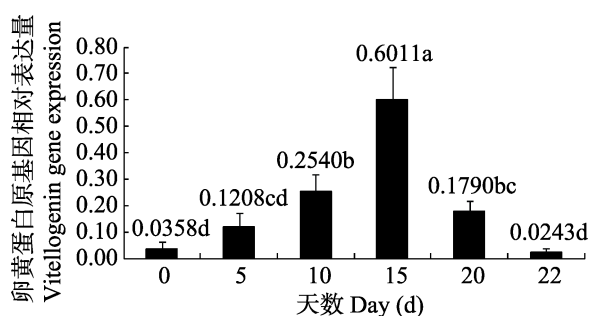


图 3 补充生殖蚁发育过程中的卵黄蛋白原基因相对表达量

Fig. 3 Vg gene relative expression during the neotenic reproductive development

柱上标有不同小写字母表示显著性差异 ($P < 0.05$)。Histograms with different small letters indicate significant difference at 0.05 level.

2.3 补充生殖蚁的卵子发生

圆唇散白蚁末龄若蚁和生殖蚁的卵巢都是

由多个卵巢管组成, 卵母细胞在卵巢管内依次排列 (图 1: C, D)。在末龄若蚁的卵巢管内有卵原细胞和生长期的卵母细胞 (被一层滤泡细胞包围), 没有具卵黄的卵母细胞 (图 1: E)。末龄若蚁向补充生殖蚁蜕皮分化过程中, 卵母细胞发育仍处于卵母细胞生长期阶段。补充生殖蚁在蜕皮后第 5 天, 滤泡细胞之间出现间隙, 为卵黄的摄取做准备 (图 1: F); 第 10 天时, 卵子发生进入卵黄形成期, 卵巢内有具卵黄的卵母细胞 (图 1: G); 第 20 天时, 卵母细胞发育至卵黄形成末期, 体积达到最大, 滤泡细胞层变薄, 滤泡细胞为长条形, 表明滤泡细胞开始退化, 卵母细胞成熟 (图 1: H)。

2.4 补充生殖蚁的具卵黄卵母细胞数目

补充生殖蚁在发育后第 10 天, 个体开始有具卵黄的卵母细胞, 具卵黄卵母细胞的数目为 (3.0 ± 0.70) 个 ($n=5$), 第 15 天具卵黄卵母细胞增加, 为 (3.3 ± 1.60) 个 ($n=5$); 第 20 天具卵黄的卵母细胞数量为 (4.3 ± 0.60) 个 ($n=5$)。补充生殖蚁最早的产卵时间是发育的第 22 天, 平均产卵时间为 (24.7 ± 2.6) d ($n=5$), 据统计 1 头补充生殖蚁初次产卵量为 (2.7 ± 0.60) 粒 ($n=5$) (图 4)。

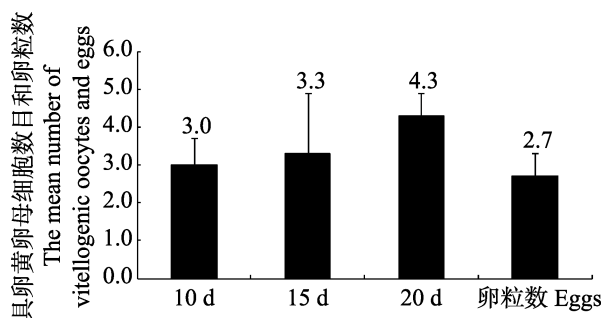


图4 补充生殖蚁在第10、15和20天的具卵黄卵母细胞数目和产卵数(mean±SD, $n=5$)

Fig. 4 The mean number of vitellogenic oocytes on days 10, 15 and 20 and eggs laying of neotenic reproductives(mean±SD, $n=5$)

2.5 补充生殖蚁的子代数

补充生殖蚁分化后,用1雌1雄配对和10头工蚁共同饲养。生殖蚁产卵后,从第1—3月每个月和第10个月,每次解剖10个巢观察统计其子代的数目,包括产卵量、幼蚁、工蚁及兵蚁的数目。第1个月至第3个月,生殖蚁的产卵量为逐渐增加,产卵量分别为(2.45 ± 1.43)、(7.68 ± 2.53)和(12.10 ± 7.09)粒。第3个月,补充生殖蚁的巢内开始出现幼蚁,数量为(5.15 ± 2.41)头。第10个月,巢群内幼蚁已经分化出工蚁、前兵蚁和兵蚁(表1)。

表1 补充生殖蚁的子代数

Table 1 The number of offspring in neotenic reproductives

	第1个月 The 1st month	第2个月 The 2nd month	第3个月 The 3rd month	第10个月 The 10th month			
子代 Offspring	卵 Egg	卵 Egg	卵 Egg	幼蚁 Larva	工蚁 Worker	前兵蚁 Pre-soldier	兵蚁 Soldier
个数 Number	2.45 ± 1.43	7.68 ± 2.53	12.10 ± 7.09	5.15 ± 2.41	17.03 ± 2.28	1.45 ± 0.31	0.79 ± 0.18

3 讨论

我们的研究显示圆唇散白蚁补充生殖蚁与原始生殖蚁在体壁角质化程度上有显著差异,补充生殖蚁身体的色素沉积和角质化程度低,抵挡不住恶劣的环境(比如病原微生物侵染),因此补充生殖蚁不具有独自生存的能力,必须有工蚁对其进行照顾才能存活。在缺乏生殖蚁的情况下,若蚁可以随时向补充生殖蚁转化,这种发育的可塑性和灵活性对于巢群的稳定和扩张非常重要。虽然补充生殖蚁不能够像成虫个体一样飞出原巢建立新的巢群,但是可以通过隔离建群的方式建立新巢,一些若蚁或补充生殖蚁与工蚁一起在远离主巢的地方建立新巢,这种建巢方式成活率高,并且繁殖速度快,隔离建群的群体增长速度比分飞成虫建群的快,对于蚁群的扩张有重要意义(Wu *et al.*, 2013; 刘明花等, 2014)。

我们的研究表明在补充生殖蚁发育过程中, Vg 基因表达在0~15 d迅速升高,在蜕皮后15 d Vg 基因表达量达到最大值,随后 Vg 基因相对

表达量降低,直到初次产卵时,降到最低,即 Vg 基因表达在补充生殖蚁发育过程中为先升高后降低的动态变化模式。同时,经研究发现在补充生殖蚁分化的第10天,卵母细胞开始具卵黄,随着时间的增加,具卵黄卵母细胞的数量在逐渐增加,在20 d时达到最高值。散白蚁的卵子发生包括三个时期:卵原细胞分化期、卵母细胞生长期和卵黄形成期(Su *et al.*, 2014)。经过两个实验数据比较可以发现,在卵母细胞发育初期, Vg 基因表达量增加促进了卵母细胞卵黄的形成;在第20天的时候,卵母细胞成熟,基因表达量逐渐降低,直到卵子形成时,降到最低值,表明 Vg 基因表达量的增加启动了卵母细胞的卵黄摄取过程。卵黄蛋白原是由昆虫脂肪体合成并分泌到血淋巴中,并被正在发育的卵母细胞选择性摄取,而血淋巴中卵黄蛋白原水平是处于分泌和摄取的动态平衡之间的,在早期的研究中发现,在卵母细胞发育的早期和卵子形成的末期,血淋巴中的卵黄蛋白原水平没有变化,相似的结果在日本对虾 *Marsupenaeus japonicus* 中也有报

道 (Tahara *et al.*, 2005)。在圆唇散白蚁中生殖蚁的类型多样化, 由于 Vg 基因的合成具有发育期的特异性, 也许在不同的生殖个体中, Vg 基因的表达量会有不同, 还需要进一步深入探讨。据报道 JH 对大部分昆虫脂肪体组织的 Vg 基因的表达具有刺激效应, 血淋巴内的 JH 浓度是决定卵黄形成作用开始和延续的关键因素 (Chinzei *et al.*, 1982; Hartfelder, 2000), 其主要通过调节脂肪体 Vg 基因的合成和卵巢滤泡细胞对 Vg 的摄取。因此, 补充生殖蚁卵子成熟过程中的 Vg 基因表达量动态变化可能受体内 JH 调节。

圆唇散白蚁若蚁在巢群需要的时候, 可以在很短时间内转化为补充生殖蚁, 在蚁群繁衍和生存中起关键作用。在巢群中补充生殖蚁对巢群的稳定和发展起着至关重要的作用, 原始蚁王蚁后的寿命是有限的, 在一些种中, 当巢群中原始蚁王蚁后死后巢群中很快会分化出很多的补充生殖蚁取代原始蚁王蚁后, 有些白蚁中, 在原始蚁王蚁后存在的情况下也能分化出许多补充生殖蚁 (Roisin, 2000; Grube and Forschler, 2004)。在圆唇散白蚁中, 补充生殖蚁分化一段时间后, 卵巢才发育成熟。而苏晓红和奚耕思 (2004) 发现在尖唇散白蚁末龄若蚁羽化成为长翅成虫后, 卵原区内就已经具有具卵黄卵母细胞, 说明长翅成虫在羽化后, 卵巢就已经接近成熟, 比补充生殖蚁卵巢发育早。生殖能力的差异与生殖细胞的发育程度有直接的关系。已报道在散白蚁巢群中, 成熟蚁巢中单个的补充生殖蚁的产卵量不如原始蚁后的多, 但是巢群中大量的各种补充生殖蚁总产卵量是原始生殖蚁的百倍以上 (Thorne *et al.*, 1999; Grube and Forschler, 2004)。根据我们的实验结果统计发现在第 1-3 个月可以观察到卵, 产卵量分别为 (2.45 ± 1.43)、(7.68 ± 2.53) 和 (12.10 ± 7.09) 粒, 而散白蚁原始生殖蚁首次产卵数较多, 如尖唇散白蚁原始生殖蚁首次产卵量为 (10.33 ± 1.22) 粒 (邢连喜等, 2013)。刘明花等 (2014) 在野外解剖了 5 个圆唇散白蚁巢, 仅 1 个巢存在原始生殖蚁, 其余 4 个没有原始生殖蚁, 但是都有多个补充生殖蚁, 最长达 689 个。表明单个补充生殖蚁的产卵量也许不如原始生

殖蚁, 但是一个成熟巢群内补充生殖蚁数量很多, 总产卵量要比原始繁殖蚁多。因此补充生殖蚁是维护巢群稳定和发展的主要品级。

在第 3 个月时, 圆唇散白蚁生殖蚁所产的卵孵化为幼蚁, 生殖蚁产卵停止, 这是由于受到生存条件的限制, 例如: 食物和劳动力等的原因停止产卵, 导致生殖个体具有周期性。在欧美散白蚁 *R.lucifugus* 中, 初建巢的原始生殖蚁第一批子代会在 28 d 左右孵化为幼蚁, 当幼蚁蜕皮为 3 龄工蚁时的 4—6 个月生殖蚁又恢复产卵 (Nutting, 1969), 说明生殖具有周期性。在第 10 个月, 巢群中出现工蚁、前兵蚁和兵蚁的分化, 工蚁是由幼蚁发育而来, 由于在巢群中主要负责建巢、哺幼、清洁和防御等重要工作 (邢连喜, 1997), 所以工蚁分化的数量是最多的, 为 (17.03 ± 2.28) 头。工蚁可以为了巢群的利益而改变自己, 具有很强的可塑性, 因此工蚁是巢群中最具有活力的一个品级, 对于稳定或维持群体结构, 使种族延续具有极其重要的意义 (Korb, 2010)。在我们研究的巢群中发现, 小兵蚁是由 3~4 龄的工蚁发育而来, 经过前兵蚁阶段转变成成为兵蚁, 个头很小, 主要起到防御的作用, 由于头部形态明显变化且高度骨化, 所以不能独自取食, 需工蚁喂食才能存活, 导致巢群中数量很少, 占巢群总数量的 1%~5%。在第 10 个月时, 巢群中没有出现若蚁的分化, 表明若蚁的分化是在工蚁和兵蚁之后。在白蚁的巢群中各品级保持一定的比例, 它们之间既相互合作又相互制约, 从而维持群体的存活与发展。

参考文献 (References)

- Chinzei Y, White BN, Wyatt GR, 1982. Vitellogenin mRNA in locust fat body: identification, isolation, and quantitative changes induced by juvenile hormone. *Canadian Journal Biochemistry*, 60(3): 243–294.
- Clément JL, 1981. Enzymatic polymorphism in the European populations of various *Reticulitermes* species (Isoptera) // Howse PE, Clément JL (eds.). *Biosystematics of Social Insects*. London: Academic Press. 49–62.
- Grube S, Forschler BT, 2004. Census of monogyne and polygyne laboratory colonies illuminates dynamics of population growth in *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Annals of the*

- Entomological Society of America*, 97(3) : 466–475.
- Hartfelder K, 2000. Insect juvenile hormone: from “status quo” to high society. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 33(2): 157–177.
- Korb J, 2010. Termites: Social Evolution// Korb J, Takuya Abe(eds.). Encyclopedia of Animal Behavior. New York: Academic Press. 394–400.
- Liu MH, Zhang XJ, Xue W, Chen JL, Liu He, Wu Jia, Su XH, 2014. The types of secondary reproductives and its colony foundation capacity in the termite, *Reticulitermes labralis* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Acta Entomologica Sinica*, 57(11): 1328–1334. [刘明花, 张小晶, 薛微, 陈娇玲, 刘鹤, 吴佳, 苏晓红, 2014. 圆唇散白蚁补充生殖蚁的类型与建群能力. 昆虫学报, 57(11): 1328–1334.]
- Maekawa K, Ishitani K, Gotoh H, Cornette R, Miura T, 2010. Juvenile Hormone titer and vitellogenin gene expression related to ovarian development in primary reproductives, as compared to nymphs and nymphoid reproductives of the termite *Reticulitermes speratus*. *Physiological Entomology*, 35(1): 52–58.
- Nijhout HF, 1994. Insect Hormones. Princeton: Princeton University Press. 1–267.
- Nutting WL, 1969. Flight and colony foundation // Krishna K (ed.). Biology of Termites. New York: Academic Press. 233–276.
- Roisin Y, 2000. Diversity and evolution of caste patterns // Abe T, Bignell DE, Higashi M (eds.). Termites: Evolution, Sociality, Symbioses, Ecology. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 95–119.
- Roisin Y, 2006. Life history, life types and caste evolution in termites// Kipyatkov VE(ed.). Life Cycles in Social Insects: Behaviour, Ecology and Evolution. Peterburg: Petersburg University Press. 85–95.
- Scharf ME, Ratliff CR, Hoteling JT, Pittendrigh BR, Bennett GW, 2003. Caste differentiation responses of two sympatric *Reticulitermes* termite species to juvenile hormone homologs and synthetic juvenoids in two laboratory assays. *Insectes Sociaux*, 50(4): 346–354.
- Scharf ME, Scharf DW, Zhou X, Pittendrigh BR, Bennett GW, 2005. Gene expression profiles among immature and adult reproductive castes of the termite *R. flavipes*. *Insect Molecular Biology*, 14(1): 31–44.
- Shimada K, Maekawa K, 2010. Changes in endogenous cellulase gene expression levels and reproductive characteristics of primary and secondary reproductives with colony development of the termite *Reticulitermes speratus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *Journal of Insect Physiology*, 56(9): 1118–1124.
- Su XH, Wei YH, Liu MH, 2014. Ovarian development and modes of apoptosis during oogenesis in various castes of the termite *Reticulitermes aculabialis*. *Physiological Entomology*, 39(1): 44–52.
- Su XH, Xi GS, 2004. Oogenesis in the termite, *Reticulitermes aculabialis*. *Journal of Northwest university(Natural Science Edition)*, 34(3): 317–319. [苏晓红, 奚耕思, 2004. 尖唇散白蚁卵子的发生的研究. 西北大学学报(自然科学版), 34(3): 317–319.]
- Tahara D, Suitoh K, Hattori H, 2005. Hemolymph vitellogenin levels during Final maturation and post-spawning in the female kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus*. *Aquaculture*, 245 (2) : 311–319.
- Thorne BL, Traniello JFA, Adams ES, Bulmer M, 1999. Reproductive dynamics and colony structure of subterranean termites of the genus *Reticulitermes* (Isoptera : Rhinotermitidae): a review of the evidence from behavioural, ecological, and genetic studies. *Ethology Ecology and Evolution*, 11(2): 149–169.
- Thorne BL, Breisch NL, Muscedere ML, 2003. Evolution of eusociality and the soldier caste in termites: influence of intraspecific competition and accelerated inheritance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(22): 12808–12813.
- Vieau F, 2001. Comparison of the spatial distribution and reproductive cycle of *Reticulitermes santonensis* Feytaud and *Reticulitermes lucifugus grassei* Clement (Isoptera, Rhinotermitidae) suggests that they represent introduced and native species, respectively. *Insectes Sociaux*, 48(1): 57–62.
- Wu J, Su XH, Kong XH, Liu MH, Xing LX, 2013. Multiple male and female reproductive strategies and the presence of a polyandric mating system in the termite *Reticulitermes labralis*. *Sociobiology*, 60(4): 459–465.
- Xing LX, 1997. Damage and control of termites in Northwestern China. Hangzhou: Zhejiang University. [邢连喜, 1997. 西北五省白蚁危害及防治研究. 浙江杭州: 浙江大学.]
- Xing LX, Liu MH, Kong XH, Liu X, Su XH, Yin LF, Tan JL, 2013. Parthenogenetic reproductive behavior and initial colony foundation in the termite, *Reticulitermes aculabialis*. *Journal of Applied Entomology*, 50(6): 1671–1678. [邢连喜, 刘明花, 孔小红, 刘晓, 苏晓红, 阴灵芳, 谭江丽, 2013. 尖唇散白蚁的孤雌生殖行为及初建群体研究. 应用昆虫学报, 50(6): 1671–1678.]
- Zhou X, Tarver MR, Scharf ME, 2007. Hexamerin-based regulation of juvenile hormone- dependent gene expression underlies phenotypic plasticity in a social insect. *Development*, 134(3): 601–610.