

龟纹瓢虫(*Propylea japonica* (Thunberg)) 卵子发生的组织学研究

张天澍^{a,b}, 李 恺^a, 张丽莉^a, 王 斌^a

(华东师范大学 a 生命科学学院, b 资源与环境科学学院, 上海 200062)

[摘要] 【目的】系统观察龟纹瓢虫(*Propylea japonica* (Thunberg))卵子发生过程,为进一步了解龟纹瓢虫的生殖生物学奠定基础。【方法】对处于不同发育时期的龟纹瓢虫卵巢做石蜡切片,光镜下观察其卵子发生过程。【结果】第 1 阶段,在卵原区可见分化的卵母细胞和滋养细胞,卵母细胞正进行减数第一次分裂;第 2 阶段,卵母细胞向生长区移动,细胞体积逐渐增大,细胞核形成胚泡,前滤泡细胞逐渐分布于卵母细胞之间;第 3 阶段,卵母细胞体积明显增大,呈圆球形,前滤泡细胞分化形成滤泡细胞,呈单层扁平细胞包围卵母细胞,胚泡移动到卵母细胞的一侧;第 4 阶段,滤泡细胞呈立方形,此时卵母细胞仍然通过营养索与滋养细胞相连;第 5 阶段,卵母细胞不再与滋养细胞连接,滤泡细胞由立方形变为扁平状,在卵母细胞质的边缘处出现细小的卵黄颗粒;第 6 阶段,卵黄颗粒逐渐充满整个卵母细胞,胚泡退化;第 7 阶段,卵母细胞表面形成卵黄膜和卵壳,滤泡细胞逐渐与卵母细胞分离,卵母细胞发育为成熟的卵子。【结论】龟纹瓢虫卵子发生过程可明显划分为卵母细胞分化期、卵母细胞生长期、卵黄形成及卵子成熟期 3 个时期,并可进一步分为 7 个阶段。

[关键词] 龟纹瓢虫; 卵子发生; 卵母细胞

[中图分类号] Q965

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2009)03-0175-06

Oogenesis in *Propylea japonica* (Thunberg)

ZHANG Tian-shu^{a,b}, LI Kai^a, ZHANG Li-li^a, WANG Bin^a

(a School of Life Science, b School of Resources and Environment Science, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

Abstract: 【Objective】The study was intended to observe the oogenesis of *Propylea japonica* (Thunberg) and to provide theoretical basis for reproductive biology of *Propylea japonica*. 【Method】Ovaries in different developmental stages were studied by paraffin sectioning. 【Result】(1) Oocytes and nurse cells were located in the germarium; first meiotic division occurred at this stage; (2) Oocytes grew in size and moved towards the vitellarium. The nucleus of the oocyte transformed into germinal vesicle. And the pre-follicle cells were located between the oocytes; (3) Oocytes became globosity and the monolayer follicle cells were flat surrounding the oocyte, the germinal vesicle moved into the periplasm; (4) Follicle cells became cubic in shape, and the nurse cells still connected with the oocytes by the nutritive cord at this stage; (5) The nutritive cord disappeared, and the follicle cells became flat and some yolk granules appeared on the edge of cytoplasm; (6) Ooplasm was gradually filled up with yolk granules, and the germinal vesicle breakdown occurred; (7) The vitellin member and egg shell formed and encircled the oocyte. 【Conclusion】Oogenesis in the adult stage of *Propylea japonica* (Thunberg) could be divided into 3 phases and 7 stages.

Key words: *Propylea japonica* (Thunberg); oogenesis; oocyte

* [收稿日期] 2008-04-25

[基金项目] 上海市青年科技启明星计划项目(04QMX1418)

[作者简介] 张天澍(1977-),男,湖北宜都人,博士,主要从事昆虫生理学研究。E-mail: zhangtianshu2000@sohu.com

[通信作者] 李 恺(1971-),女,陕西洋县人,副教授,博士,主要从事昆虫生理学研究。E-mail: kaili@bio.ecnu.edu.cn

龟纹瓢虫(*Propylea japonica* (Thunberg))隶属于鞘翅目(Coleoptera)、多食亚目(Polyphaga)、瓢甲科(Coccinellidae),是一种重要的天敌昆虫。对于昆虫卵子发生的研究一直是发育生物学和生殖生物学的研究热点。昆虫卵巢结构主要有无滋式、多滋式和端滋式 3 种。龟纹瓢虫卵巢结构属于端滋式。以往的研究主要是对东亚飞蝗(*Locusta migratoria manilensis*)^[1]、飞蝗(*Locusta migratoria*)^[2]、蟋蟀(*Scapsipedus micado saussure*)^[3]、北京油葫芦(*Teleogryllus emma*)^[4]、中华稻蝗(*Oxya chinensis*)^[5]、中华蚱蜢(*Acrida chinensis*)^[6]、异翅负蝗(*Atractomorpha heteroptera*)^[7]、短额负蝗(*Atractomorpha sinensis*)^[8]等无滋式昆虫,及乳草蝽(*Oncopeltus fasciatus*)^[9]、黄粉虫(*Tenebrio molitor*)^[10]、七星瓢虫(*Coccinella septempunctata* L.)^[11]等端滋式昆虫卵子发生的观察,而对重要天敌昆虫龟纹瓢虫的卵巢结构和卵子发生尚未见报道。因此,本研究以龟纹瓢虫为试验材料,对其卵子发生过程的组织学进行了研究,以期为进一步了解龟纹瓢虫的生殖生物学理论奠定基础,同时也为昆虫卵黄发生的研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

龟纹瓢虫采自上海市浦东郊区棉田,在实验室内用棉蚜(*Aphis gossypii* Glover)喂养,使其产卵,幼虫孵化后在 22~24 °C、相对湿度 70%~80%、光照 16 h/黑暗 8 h 条件下饲养。新羽化的成虫在直径 9 cm 的培养皿中配对饲养。

1.2 方法

取羽化后 0, 24, 48, 72 和 96 h 的龟纹瓢虫成虫,在生理盐水中解剖,取其卵巢,置于 Bouin's 液中固定,常规石蜡切片,切片厚 6~8 μm, H. E 染色,光镜下观察并拍照。

2 结果与分析

2.1 龟纹瓢虫卵巢的组织结构

成熟龟纹瓢虫的雌性生殖系统由一对卵巢、一对侧输卵管、一条中输卵管、一个受精囊以及生殖腔组成。每侧卵巢由 8~12 个卵巢管组成,卵巢管在基部汇合,并与同侧的侧输卵管相连,两个侧输卵管再汇合与中输卵管相连(图 1)。成熟的卵巢呈菊花型,卵巢管从端部到基部由明显的 3 部分组成:端丝、卵原区和生长区。端丝将卵巢管固定在体壁和

脂肪体上,卵原区具有已分化的滋养细胞和卵母细胞。滋养细胞位于卵巢管的前部,卵母细胞继续分裂生长进入生长区,发育中的卵母细胞由一层滤泡细胞包围形成卵泡,最终卵母细胞在此区发育为成熟卵子。

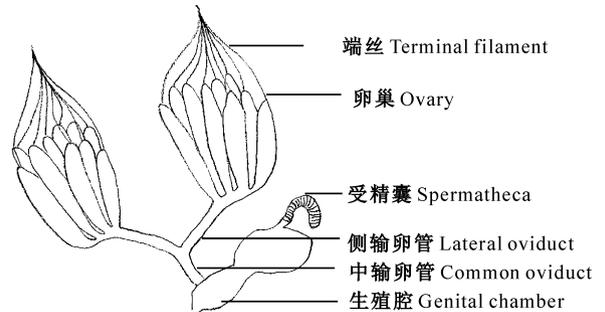


图 1 龟纹瓢虫雌性生殖系统示意图

Fig. 1 Female reproductive system of *Propylea japonica*

2.2 龟纹瓢虫卵子发生的阶段划分

根据卵母细胞体积、内核形态、滋养细胞和滤泡细胞形态的变化以及卵黄蛋白的形成积累,将龟纹瓢虫卵子发生划分为 3 个时期 7 个阶段,以便为进一步研究提供依据。

1) 第一时期:卵母细胞分化期。

第 1 阶段:从蛹期到成虫羽化后不久,在卵巢管的卵原区已经可以观察到卵母细胞和滋养细胞的分化。滋养细胞位于卵巢管的前端,细胞排列紧密,细胞核呈圆形,几乎充满整个滋养细胞;卵母细胞位于卵原区的后部,排列比较稀疏,核内染色质处于减数第一次分裂前期的各种形态(图版 1)。

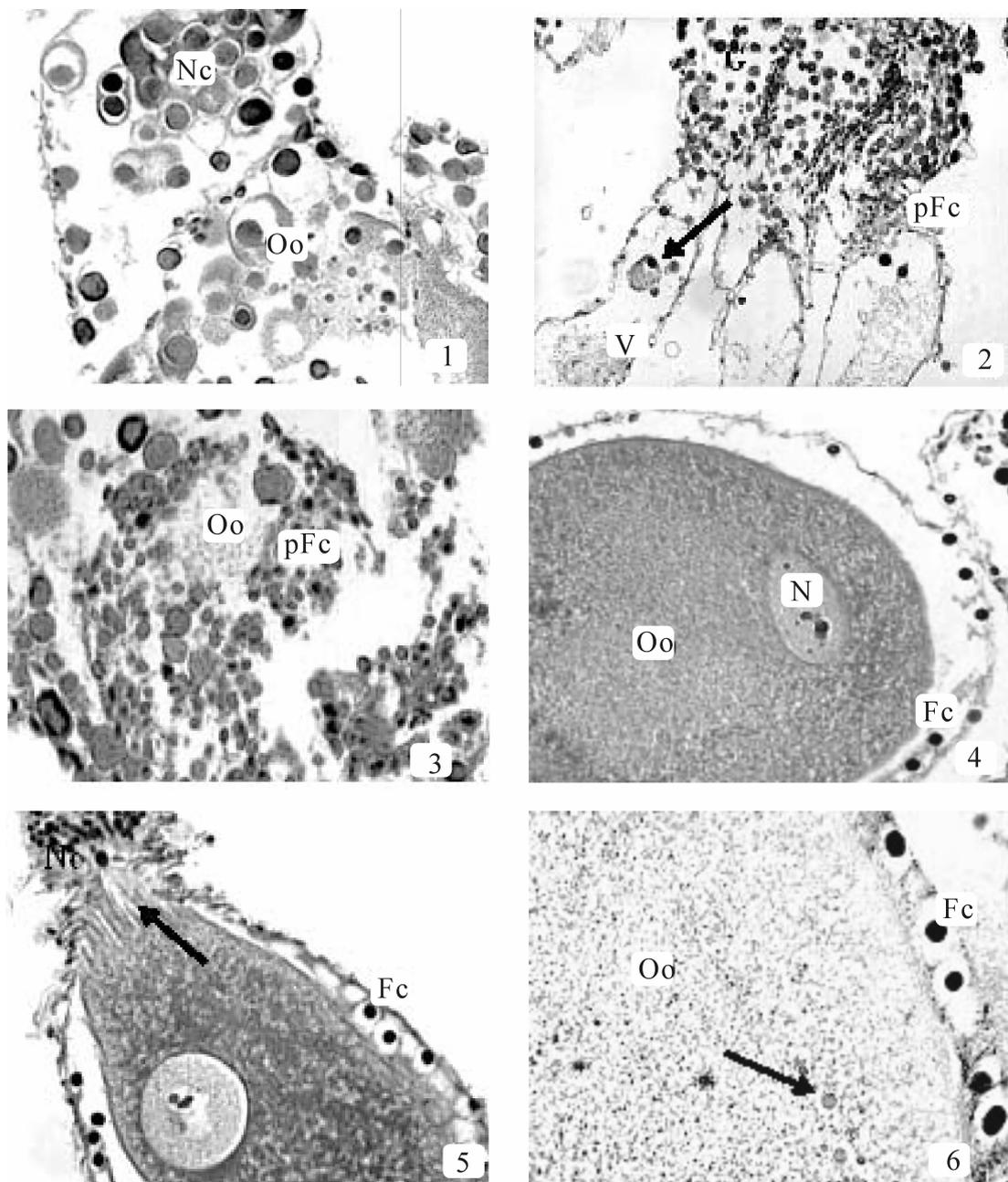
2) 第二时期:卵母细胞生长期。

第 2 阶段:卵母细胞离开卵原区向生长区移动,细胞体积逐渐增大(图版 2),细胞质 H. E 染色呈弱碱性。细胞核的体积也随之增大,常称之为胚泡。在卵原区和生长区之间有一些扁平细胞为前滤泡细胞,分布于卵母细胞之间,进行着旺盛的有丝分裂,随着数目增多,逐渐分布在卵母细胞周围,细胞界线不清(图版 3)。

第 3 阶段:卵母细胞进一步向生长区移动,继续生长,体积明显增大,呈圆球形。前滤泡细胞分化形成滤泡细胞,并在卵母细胞外形成单层扁平细胞,包围卵母细胞,习惯上称之为卵泡。胚泡内的核液逐渐增多,其位置移动到卵母细胞的一侧(图版 4)。

第 4 阶段:滤泡细胞随着卵母细胞的生长逐渐增大,呈立方体,卵母细胞继续增大,核仁呈块状,染色质成网状。此时卵母细胞仍然通过营养索与滋养

细胞相连(图版 5)。



图版 1~6 龟纹瓢虫卵子发生的组织学观察

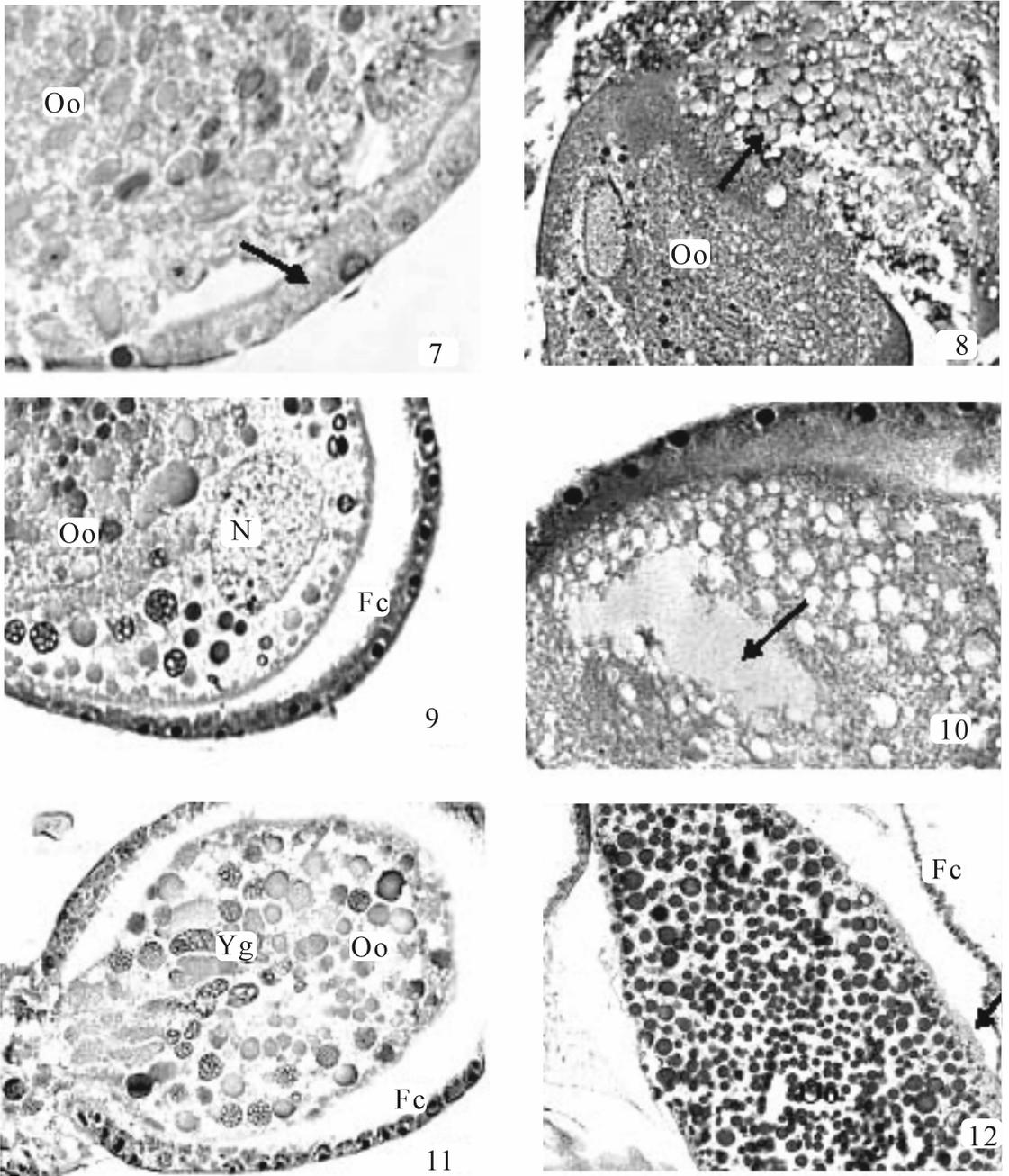
1. 卵子发生第 1 阶段,分化的卵母细胞和滋养细胞,×400;2. 卵子发生第 2 阶段,卵母细胞离开卵原区向生长区移动,箭头示体积增大的卵母细胞,前滤泡细胞位于卵原区和生长区之间,×200;3. 卵子发生第 2 阶段,前滤泡细胞逐渐包围卵母细胞,×400;4. 卵子发生第 3 阶段,卵母细胞体积明显增大,滤泡细胞在卵母细胞外形成单层细胞,包围卵母细胞,×400;5. 卵子发生第 4 阶段,卵母细胞通过营养索与滋养细胞相连(箭头示),×400;6. 卵子发生第 5 阶段,在细胞质的边缘处出现细小的卵黄颗粒(箭头示),×1 000

Nc. 滋养细胞;Oo. 卵母细胞;G. 卵原区;V. 生长区;pFc. 前滤泡细胞;Fc. 滤泡细胞;N. 细胞核;Yg. 卵黄颗粒

Plate 1-6 Oogenesis in *Propylea japonica*

1. Stage 1, oocytes and nurse cells are located in the germarium, ×400; 2. Stage 2, oocytes grow in size and move towards the vitellarium (arrow), the pre-follicle cells are located between the germarium and the vitellarium, ×200; 3. Stage 2, oocytes are surrounded by pre-follicle cells, ×400; 4. Stage 3, oocytes become bigger in size obviously, and monolayer follicle cells encircle the oocytes, ×400; 5. Stage 4, the nurse cells connect with the oocytes by the nutritive cords, ×400; 6. Stage 5, some yolk granules appear on the edge of cytoplasm (arrow), ×1 000

Nc. Nurse cell; Oo. Oocyte; G. Germarium; V. Vitellarium; pFc. Pre-follicle cell; Fc. Follicle cell; N. Nucleus; Yg. Yolk granule



图版 7~12 龟纹瓢虫卵子发生的组织学观察

7. 卵子发生第 5 阶段, 箭头示扁平的滤泡细胞, $\times 1\ 000$; 8. 卵子发生第 5 阶段, 箭头示卵母细胞质中大小不等的脂滴, $\times 400$; 9. 卵子发生第 6 阶段, 卵黄颗粒逐渐充满整个卵母细胞, 核膜逐渐退化, $\times 400$; 10. 卵子发生第 6 阶段, 箭头示退化的胚泡, $\times 400$; 11. 卵子发生第 6 阶段, 示卵黄颗粒在卵母细胞中大量积累, $\times 400$; 12. 卵子发生第 7 阶段, 箭头示卵母细胞表面形成的卵黄膜和卵壳, 且滤泡细胞逐渐与卵母细胞分离, 最终卵母细胞发育为成熟的卵子, $\times 200$

Nc. 滋养细胞; Oo. 卵母细胞; G. 卵原区; V. 生长区; pFc. 前滤泡细胞; Fc. 滤泡细胞; N. 细胞核; Yg. 卵黄颗粒

Plate 7-12 Oogenesis in *Propylea japonica*

7. Stage 5, arrow shows the flattened follicle cells, $\times 1\ 000$; 8. Stage 5, arrow shows the lipid granules with different sizes, $\times 400$; 9. Stage 6, yolk granules filled in oocytes gradually and the nucleus membrane of the oocytes begin to disappear, $\times 400$; 10. Stage 6, arrow shows the germinal vesicle disappeared, $\times 400$; 11. Stage 6, large amount of yolk granules deposit in oocytes, $\times 400$; 12. Stage 7, vitellin member and egg shell form and encircle oocyte, $\times 200$. The follicle cells separate gradually with oocytes, and the mature eggs form

Nc. Nurse cell; Oo. Oocyte; G. Germarium; V. Vitellarium; pFc. Pre-follicle cell; Fc. Follicle cell; N. Nucleus; Yg. Yolk granule

3) 第三时期: 卵黄形成及卵子成熟期。

第 5 阶段: 卵母细胞不再与滋养细胞连接, 在卵

母细胞质的边缘处出现细小的卵黄颗粒(图版6)。滤泡细胞由立方形变为扁平状(图版7),之间出现空隙。在卵母细胞和滤泡细胞之间也出现明显空隙。卵黄颗粒不断相互融合,逐渐增大,并向细胞质的中央移动,在细胞外缘重新出现较小的卵黄颗粒。同时在卵质中还出现一些大小不等的脂滴(图版8)。

第6阶段:卵黄颗粒逐渐充满整个卵母细胞,核膜变得模糊,胚泡逐渐退化(图版9,10,11)。卵母细胞呈椭圆形,一端稍宽,另一端较窄。滤泡细胞变得更加扁平,当卵黄颗粒沉淀完成后,滤泡细胞之间的空隙消失。滤泡细胞和卵母细胞之间出现明显的间隙。

第7阶段:卵母细胞表面形成卵黄膜和卵壳,并且滤泡细胞之间的界线消失,滤泡细胞成为非常扁平的一层细胞,逐渐与卵母细胞分离(图版12)。最终滤泡细胞消失,卵母细胞发育为成熟的卵子,呈椭圆形,浅黄色。

3 讨论

3.1 龟纹瓢虫卵母细胞在卵子发生中的变化及其作用

龟纹瓢虫卵子在成熟过程中,卵母细胞最明显的变化是:细胞体积显著增大;在卵黄形成期,卵母细胞质中沉淀了大量的卵黄颗粒。在卵黄沉淀以前,卵母细胞主要通过营养索,依靠滋养细胞提供营养物质,细胞体积逐渐增大。进入卵黄形成期后,卵母细胞不再依靠滋养细胞提供营养物质,营养索消失,而主要通过卵母细胞的胞饮作用,将经滤泡细胞间隙进入的卵黄颗粒吸入卵母细胞获取营养。这与大多数昆虫卵子发生的营养方式相似,即前期为内源性的营养,而后期主要为外源性的营养^[11]。

此外,龟纹瓢虫卵子在发育过程中,卵母细胞核也经历了一系列的变化:随着卵母细胞的生长,核液逐渐增多形成胚泡,核仁活动积极。这反映了在此时期,卵母细胞除从滋养细胞获取营养物质外,本身也参与了营养物质的合成。这在其他昆虫中也有类似情况,如在两种虱目昆虫卵子发生过程中,胚泡也合成了一些蛋白质,供胚胎以后的发育需要^[12]。

3.2 龟纹瓢虫滋养细胞在卵子发生中的变化及其作用

滋养细胞是端滋式和多滋式昆虫卵巢所具有的一类细胞,由生殖细胞分化而来。在龟纹瓢虫卵子发生的第1阶段就可见分化的滋养细胞和卵母细

胞。滋养细胞在卵母细胞生长期时,通过与卵母细胞之间形成的营养索来提供营养。直到卵子发生的第4阶段,仍然可见滋养细胞与卵母细胞之间的营养索。对膜翅目昆虫的研究表明,在卵子发生即将结束时,滋养细胞将其细胞质导入卵母细胞中,自身则发生凋亡^[13-14]。在龟纹瓢虫中,仅发现在卵黄形成开始时,营养索消失。但滋养细胞是否也如其他昆虫那样发生凋亡,何时凋亡,还需进一步研究证实。

3.3 龟纹瓢虫滤泡细胞在卵子发生中的变化及其作用

龟纹瓢虫滤泡细胞在卵子发生中的形态变化非常显著。滤泡细胞的前体即前滤泡细胞在卵子发生的第2阶段,只是一些位于卵原区和生长区之间的扁平细胞,随着卵子的发育,前滤泡细胞不断生长分裂,发育成滤泡细胞,成为一层包围卵母细胞的立方体细胞。在卵黄形成期开始时,滤泡细胞之间出现间隙,这与卵黄原蛋白进入卵母细胞密切相关。如对迁徙蚱蜢(*Melanoplus sanguinipes*)的研究表明,此间隙为血淋巴中的卵黄原蛋白进入卵母细胞的通道^[15],这在石蝇(*Perla marginata*)^[16]、七星瓢虫^[11]等其他昆虫中均有类似的研究结果。可见,滤泡细胞间的空隙对卵黄颗粒进入卵母细胞具有重要作用。此外,滤泡细胞在卵黄膜和卵壳的形成中均起到关键作用。当卵壳形成后,滤泡细胞便与卵母细胞分离,最终退化消失。有研究表明,滤泡细胞的退化受到蜕皮激素的调控^[17],但在龟纹瓢虫中的退化机制还需深入研究。

[参考文献]

- [1] 刘玉素,卢宝廉.东亚飞蝗(*Locusta migratoria manilensis*)生殖系统的解剖和组织结构[J].昆虫学报,1955,9(1):7-11.
Liu Y S, Lu B L. Anatomy of productive system and histological structure in *Locusta migratoria manilensis* [J]. Acta Entomology Sinica, 1955, 9(1): 7-11. (in Chinese)
- [2] Bassemir U. Ultrastructural differentiations in the developing follicle cortex of *Locusta migratoria*, with special reference to vitelline membrane formation [J]. Cell Tiss Res, 1977, 185(2): 247-262.
- [3] 吴畏,赵云龙.蟋蟀(*Scapsipedus micado saussure*)雌性生殖系统结构和卵子发生[J].上海师范大学学报:自然科学版,2001,30(3):67-71.
Wu W, Zhao Y L. The structure of the female reproductive system and oogenesis in *Scapsipedus micado saussure* [J]. Journal of Shanghai Teachers Univ; Natural Sciences Edition, 2001, 30(3): 67-71. (in Chinese)
- [4] 郎冬梅,奚耕思.北京油葫芦卵子发生的观察[J].陕西师范大

- 学学报:自然科学版,2001,29(4):90-93.
- Lang D M, Xi G S. Oogenesis in *Teleogryllus emma* Ohmachi and Matsuura [J]. Journal of Shaanxi Normal University: Natural Science Edition, 2001, 29(4): 90-93. (in Chinese)
- [5] 窦向梅, 奚耕思. 中华稻蝗卵子发生的观察 [J]. 西北大学学报:自然科学版, 2003, 33(3): 353-355.
- Dou X M, Xi G S. Study on the oogenesis in *Oxya chinensis* (Thunberg) [J]. Journal of Northwest University: Natural Science Edition, 2003, 33(3): 353-355. (in Chinese)
- [6] 奚耕思, 贺丽清, 王俊丽. 中华蚱蜢卵子发生的观察 [J]. 陕西师范大学学报:自然科学版, 2005, 33(1): 95-98.
- Xi G S, He L Q, Wang J L. Oogenesis in *Acrida chinensis* [J]. Journal of Shaanxi Normal University: Natural Science Edition, 2005, 33(1): 95-98. (in Chinese)
- [7] 赵卓, 奚耕思. 异翅负蝗卵子发生观察 [J]. 吉林师范大学学报:自然科学版, 2007(1): 31-33.
- Zhao Z, Xi G S. Oogenesis in *Atractomorpha Heteroptera* B. - Bienko [J]. Journal of Jilin Normal University: Natural Science Edition, 2007(1): 31-33. (in Chinese)
- [8] 吕淑敏, 唐超智, 奚耕思. 短额负蝗卵子发生及卵母细胞凋亡的组织学观察 [J]. 陕西师范大学学报:自然科学版, 2007, 35(3): 83-86.
- Lü S M, Tang C Z, Xi G S. Histological observation on the oogenesis and oocyte apoptosis of *Atractomorpha sinensis* Bolivar [J]. Journal of Shaanxi Normal University: Natural Science Edition, 2007, 35(3): 83-86. (in Chinese)
- [9] Bonhag P F. Histochemical studies of the ovarian nurse tissue and ovary of the milkweed bug *Oncopeltus fasciatus* [J]. J Morph, 1955, 96: 381-439.
- [10] Ullmann S L. Oogenesis in *Tenebrio molitor*: Histological and autoradiographical observations on pupal and adult ovaries [J]. J Embryol Exp Morphol, 1973, 30: 179-217.
- [11] 任淑仙, 李燕婷, 徐筠. 七星瓢虫卵子发生的观察 [J]. 昆虫学报, 1981, 24(3): 268-273.
- Ren S X, Li Y T, Xu J. Oogenesis in *Coccinella septempunctata* L. [J] Acta Entomology Sinica, 1981, 24(3): 268-273. (in Chinese)
- [12] Zelazowska M, Jaglarz M K. Oogenesis in phthirapterans (Insecta: Phthiraptera). I: Morphological and histochemical characterization of the oocyte nucleus and its inclusions [J]. Arthropod Structure & Development, 2004, 33: 161-172.
- [13] Bilinski S M, Jaglarz M K. Organization and possible functions of microtubule cytoskeleton in hymenopteran nurse cells [J]. Cell Motil Cytoskeleton, 1999, 43: 213-220.
- [14] 杨佐娟, 何建平. 昆虫卵子发生过程中细胞凋亡的研究进展 [J]. 昆虫知识, 2006, 43(4): 447-452.
- Yang Z J, He J P. Advance in apoptosis during insect oogenesis [J]. Chinese Bulletin of Entomology, 2006, 43(4): 447-452. (in Chinese)
- [15] Elliott R H, Gillott C. Histological changes in the ovary in relation to yolk deposition, allatectomy and destruction of the median neurosecretory cell in *Melanoplus sanguinipes* [J]. Can J Zool, 1976, 54: 185-192.
- [16] Rościszewska E. Oogenesis of stone flies. Development of the follicular epithelium and formation of the eggshell in ovaries of *Perla marginata* (Panzer) and *Perla pallida* guérin (Plecoptera: Perlidae) [J]. J Insect Morphol & Embryol, 1995, 24(3): 253-271.
- [17] Matova N, Cooley L. Comparative aspects of animal oogenesis [J]. Developmental Biology, 2001, 231: 291-320.