

黄胫小车蝗卵子发生及卵母细胞 凋亡的显微观察*

何建平 奚耕思

(陕西师范大学生命科学学院 西安 710062)

摘要: 对黄胫小车蝗(*Oedaleus infernalis*)卵子发生过程和卵母细胞凋亡进行显微观察。结果表明,黄胫小车蝗卵子发生可明显分为3个时期10个阶段,即卵黄发生前期、卵黄发生期和卵壳形成期。第1阶段,卵母细胞位于卵原区,经历减数第一次分裂;第2阶段,卵母细胞核内染色体解体成网状,滤泡细胞稀疏地排列在卵母细胞周围;第3阶段,滤泡细胞扁平状,在卵母细胞周围排成一层;第4阶段,滤泡细胞呈立方形排在卵母细胞周围;第5阶段,滤泡细胞呈长柱形排在卵母细胞周围,滤泡细胞之间、滤泡细胞与卵母细胞之间出现空隙;第6阶段,卵母细胞边缘开始出现卵黄颗粒;第7阶段,卵母细胞中沉积大量卵黄,胚泡破裂;第8阶段,滤泡细胞分泌卵黄膜包围卵黄物质;第9阶段,滤泡细胞分泌卵壳;第10阶段,卵壳分泌结束,卵子发育成熟。卵母细胞发育过程中的凋亡发生在卵黄发生前期,主要表现为滤泡细胞向卵母细胞内折叠,胞质呈团块状等特征。

关键词: 黄胫小车蝗;卵子发生;卵母细胞;凋亡

中图分类号: Q954, Q952 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2003)06-02-06

Studies on the Microstructure of Oogenesis and Oocyte Apoptosis of *Oedaleus infernalis*

HE Jian-Ping XI Geng-Si

(College of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract: The present paper describes the oogenesis and oocyte apoptosis of *Oedaleus infernalis*. Oogenesis may be divided into 10 stages: 1. Oocytes are located in the germarium and first meiotic division occurs at this stage; 2. the chromatin in the oocyte nucleus disintegrates into reticular structure, and few follicle cells surround the oocytes; 3. follicle cells become flat and form a monolayer surrounding the oocyte; 4. follicle cells become columnar; 5. follicle cells become cylinder shape, and there is empty space between follicle cells and the oocyte; 6. the yolk granules appear on the edge of cytoplasm; 7. large amount of yolk granules deposit in the cytoplasm, and germinal vesicle breakdown occurs; 8. follicle cells secrete vitelline envelope (VE) surrounding the yolk; 9. follicle cells begin to secrete chorion component; 10. the oogenesis ends completely as soon as chorion forms. Oocyte apoptosis occurs in previtellogenesis, characterized by the follicle cells' folding to the oocyte and cytoplasmic clumping etc.

* 陕西师范大学青年基金资助;

第一作者介绍 何建平,女,36岁,博士,副教授;研究方向:昆虫生理学;E-mail: Hejianping-118@163.com。

收稿日期:2003-02-01,修回日期:2003-09-05

Key words: *Oedaleus infernalis*; Oogenesis; Oocyte; Apoptosis

昆虫卵子发生一直是生殖生物学的研究热点。昆虫卵巢结构主要有无滋式、多滋式和端滋式三种。蝗虫卵巢结构属于无滋式,即只有卵母细胞与滤泡细胞,而无滋养细胞。在生长区内含有一系列由大到小的卵母细胞,每一个正在发育的卵母细胞被一层滤泡细胞包围。对直翅目昆虫卵子发生的显微和超微结构的研究主要有:Bassemir、Lauverjat 和 Abu-Hakima 等对飞蝗 (*Locusta migrator*)^[1-3] 卵子发生的研究; Ghosh 等^[4] 对 *Gesonula punctifrons* 的研究等。我国刘玉素和卢宝廉^[5] 对东亚飞蝗的生殖系统进行了较详细的显微研究。为了深入研究直翅目昆虫卵子发生中的调控,作者以黄胫小车蝗 (*Oedaleus infernalis*) 为研究对象,对其卵子发生过程的显微结构进行了观察,并对其发生过程进行阶段划分。同时,发现在蝗胫小车蝗卵子发生过程中存在卵母细胞凋亡的现象。

1 材料与方 法

实验用黄胫小车蝗采自陕西省西安市长安县,采集不同发育程度的幼虫及成虫饲养于养虫箱中,分别在生理盐水中解剖出卵巢, Bouin's 液固定,石蜡包埋,切片厚 6~8 μm ,贴片后烘干, H.E 染色, Olympus 光镜观察并拍照。

2 结 果

2.1 卵巢的组织结构 黄胫小车蝗雌性的内部生殖系统由一对卵巢 (ovaries)、一对侧输卵管 (lateral oviducts) 和一条中输卵管 (common oviduct) 构成。每个卵巢由 20~30 条无滋式卵巢小管构成,各卵巢小管借管柄直接开口于同侧的侧输卵管,从端部到基部,每个卵巢小管可清晰地分为三部分:①端丝,将卵巢小管连接到脂肪体及体壁上;②卵原区,由正在分化的卵原细胞和滤泡细胞组成;③生长区,由不同发育阶段的卵泡构成一列,每一卵泡由一个位于中心的卵母细胞和位于周围的一层滤泡细胞所组成 (图版 I:1)。

在生长区,最基部的卵母细胞(靠近侧输卵管)是最先发育成成熟卵子的卵母细胞,成熟卵子大小约 6 mm,紧接其后的则停留在约 1 mm 大小。当成熟卵子排入到侧输卵管后,紧接其后的较幼的卵母细胞开始继续发育,直至最后的成熟卵子。

2.2 卵子发生阶段的划分 依据卵母细胞体积变化、核内核酸变化、卵黄形成及细胞内营养物质的形成与积累、滤泡细胞形态变化,将黄胫小车蝗卵子发生的连续过程人为地划分为 3 个时期 10 个阶段,以便于后续的进一步研究。

I 期:卵黄发生前期。

第 1 阶段,在幼虫及刚羽化不久的成虫中,卵巢小管前端卵原区有许多正在经历减数第一次分裂前期的卵母细胞,它们排列紧密,界限不清,核圆形,几乎充满整个细胞, H.E 染色表现出明显的嗜碱性,其体积变化不大。此阶段很难分清滤泡细胞 (图版 I:2)。

第 2 阶段,卵母细胞离开卵原区进入生长区,体积逐渐增大,渐呈单行排列,细胞核体积增大,由于核液的增多,细胞核形成胚泡 (图版 I:3)。核内染色体由第一阶段状态逐渐凝集成块,最后形成网状,细胞质 H.E 染色呈弱碱性。此期细胞核在卵母细胞中占据较大的体积,可见多个核仁 (图版 I:3)。滤泡细胞开始分布在两个卵母细胞之间,并与卵小管相接触 (图版 I:4),随着分裂数量逐渐增多,开始分布在卵母细胞周围,但较稀疏,细胞之间界限不清。

第 3 阶段,卵母细胞迅速增大,胚泡体积稍有增加,分布在胞质中央呈椭圆形。核内染色体呈网状。滤泡细胞不断地进行有丝分裂,数量急剧增加,分布在卵母细胞外形成一层,呈扁平状 (图版 I:5)。

第 4 阶段,卵母细胞体积继续增大,胚泡开始向后端移动,即移向靠输卵管的方向。滤泡细胞仍在进行分裂,并分布在卵母细胞周围。由于数量大增使得滤泡细胞由扁平形变为立方

形(图版 I:6)。

II期:卵母细胞的卵黄形成期。卵母细胞开始积累大量卵黄,体积迅速增加。

第5阶段,卵母细胞进一步增大,呈明显的长圆柱状,胚泡已位于卵母细胞的后端。滤泡细胞呈长柱形,滤泡细胞间、滤泡细胞和卵母细胞之间出现空隙(图版 I:7)。在卵母细胞的胞质边缘,可见许多小泡状体,并开始有小的卵黄颗粒在胞质边缘出现(图版 I:8)。

第6阶段,卵质外缘不断有小的卵黄颗粒,它们相互融合,并陆续向卵质中央移动,外缘重新出现小的卵黄球(图版 II:9)。

第7阶段,卵黄积累基本完成,核内物质开始分散,胚泡已开始破裂,滤泡细胞由柱状开始变成立方状(图版 II:10,11)。卵黄颗粒沉积完成后,滤泡细胞间空隙消失。

第8阶段,滤泡细胞开始向卵母细胞分泌卵黄膜前体,卵黄膜前体之间再相互连接形成卵黄膜,从而将卵黄物质包住(图版 II:12)。

III期:卵壳形成期。滤泡细胞分泌卵壳蛋白,并将卵子包围,准备将其排出。

第9阶段,滤泡细胞进一步分泌卵壳蛋白形成卵壳,将卵子包围起来,滤泡细胞成扁平状(图版 II:13)。

第10阶段,卵已完成发育并被卵壳包围,呈长椭圆形,长约6~7mm(图版 II:14)。卵巢管生长区后端的上皮细胞已形成上皮塞,阻止卵进入输卵管。

当卵完成最后的发育后,上皮塞破裂,成熟的卵移入输卵管准备排出体外。

2.3 卵子发生过程中卵母细胞凋亡 卵子发生过程中,在卵黄发生前期和卵黄沉积之前,常可见到一些卵母细胞的凋亡现象,主要特征是其滤泡细胞向卵母细胞内折叠(图版 II:15),卵母细胞的胞质不均匀,成团块状,并有空泡。这些现象符合细胞凋亡的一般细胞学特征,但还需进一步的研究。

3 讨论

3.1 黄胫小车蝗的发育与其卵子发生的特征

在幼虫期黄胫小车蝗卵子发育只到第3阶段,羽化为成虫之后卵子才迅速发育,并且在交配之后的个体中才开始大量地积累卵黄,直至发育为成熟的卵子。因此,交配是黄胫小车蝗卵子发生过程中必须经历的,否则将无法产生成熟的卵子。在果蝇的卵子发生过程中,交配和性肽是其卵黄沉积的控制中心。性肽是由雄性附性腺合成的,在交配过程中送入到雌性体内,刺激雌性卵黄沉积^[6]。因此,黄胫小车蝗卵子发生过程必须经历交配,可能是在交配的过程中,雌性接受雄性类似果蝇的性肽类物质,从而刺激雌性快速沉积卵黄,产生成熟的卵子。

3.2 卵子发生过程中卵母细胞的变化 在卵子发生过程中卵母细胞变化非常明显,尤以卵黄积累时最为显著。随着卵黄积累,卵母细胞中储存大量的卵黄蛋白,这些卵黄蛋白中的大部分作为胚胎发育的营养源,保证胚胎发育的顺利完成。另有一些存在于卵母细胞后端的蛋白质则可形成生殖质,参与和调控原始生殖细胞的产生。在果蝇卵子的后端已发现有多种生殖质成分^[7]。

3.3 滤泡细胞在卵子发生过程中的变化及作用 滤泡细胞形成一层包围在卵母细胞外,构成卵母细胞发育的小环境,同时将外界环境的信息反馈给卵母细胞。当卵母细胞体积增大时,滤泡细胞的形状由扁平状变为立方形,再到长柱形,到卵母细胞卵黄积累完成之后,由长柱形变为立方形,最后成为椭圆形。滤泡细胞的这些形态变化与其功能是密切相联系的。滤泡细胞是一种分泌和代谢十分旺盛的细胞,卵母细胞的发育与其滤泡细胞的调节密切相关。滤泡细胞的主要作用不仅是给卵母细胞提供营养物质的积累以及形成卵黄膜和卵壳,并且在卵母细胞发育的过程中提供发育信息。在果蝇中,卵的背腹轴和前后端的建立,均需要滤泡细胞和卵母细胞之间的信号通路来相互调节^[8,9]。

卵子成熟以后,滤泡细胞行将退化,根据 Gaino 和 Massino^[10]对 *Habrophlebia eldae* 滤泡上皮细胞超显微结构分析指出,滤泡上皮细胞消失有两种去向:一是粘附在卵壳柱状体两边;二

是在排卵前形成一种无定型物质包裹卵子表面。根据对黄胫小车蝗成熟卵组织切片的观察,卵壳形成后,滤泡上皮细胞膜界限消失,细胞变小,核膜也模糊不清,有些区域亦观察不到细胞形态,但滤泡细胞层依然存在,可能是在排卵过程中才消失。

3.4 卵子发生过程中卵母细胞凋亡 有关昆虫卵子发生过程中卵母细胞的凋亡,对果蝇的研究较多^[7]。果蝇卵子发生过程中,在2个时期可发生细胞凋亡,第1个时期是在卵黄发生期,此期是卵子发生的关键时期,凋亡可使果蝇在不利的环境下(例如饥饿)保持较高的生殖水平。第2个时期是端滋式卵巢和多滋式卵巢所必需经历的,即在卵黄发生完成后,滋养细胞快速将其细胞质转运到卵母细胞中,对卵母细胞做最后贡献,一旦转运完成,滋养细胞就消失。凋亡是卵子发生过程中适应外界环境的对策。Huebner^[11]在*Rhodnius prolixus*观察到发育中的卵母细胞的萎缩,其特征与凋亡相似,在黄胫小车蝗卵子发生过程中亦观察到此种现象,在喂养不足的个体标本,在卵黄发生前期,常可见到卵母细胞的胞质不均匀,成团块状,并有空泡,染色体凝集,滤泡细胞深入到卵母细胞内部。果蝇在卵黄发生期的凋亡是由于蜕皮激素水平的降低所导致^[7]。因此推测黄胫小车蝗卵母细胞的凋亡可能也是由于这种原因,但还需要进一步的研究证实。

参 考 文 献

[1] Bassemir U. Ultrastructural differentiations in the developing

follicle cortex of *Locusta migratoria*, with special reference to vitelline membrane formation. *Cell Tiss Res*, 1977, **185**(2): 247 ~ 262.

- [2] Lauverjat S, Szollosi A, Marcaillou C. Permeability of the ovarian follicle during oogenesis in *Locusta migratoria* L (Insecta: Orthoptera). *J Ultrastruct Res*, 1984, **7**: 197 ~ 211.
- [3] Abu-Hakima R. Vitellogenin synthesis induced in locust fat body by juvenile hormone analog *in vitro*. *Experientia*, 1981, **37**: 1309 ~ 1311.
- [4] Ghosh D, Chel G, Pal S G. Histophysiology of Ovarian development and oogenesis in *Gesonula punctifrons* (Orthoptera: Acrididae). *Uttar Pradesh Journal of Zoology*, 1997, **17**(2): 139 ~ 145.
- [5] 刘玉素, 卢宝廉. 东亚飞蝗 (*Locusta migratoria manilensis* Meyen) 生殖系统的解剖和组织构造. *昆虫学报*, 1959, **9**(1): 7 ~ 11.
- [6] Soller M, Bownes M, Kubli E. Mating and sex peptide stimulate the accumulation of yolk in oocytes of *Drosophila elanogaster*. *European Journal of Biochemistry*, 1997, **243**(3): 732 ~ 738.
- [7] Matova N, Cooley L. Comparative aspects of animal oogenesis. *Developmental Biology*, 2001, **231**: 291 ~ 320.
- [8] Goff D J, Nilson L A, Morisato D. Establishment of dorsal-ventral polarity of the *Drosophila* egg requires capicua action in ovarian follicle cells. *Development*, 2001, **128**(22): 4553 ~ 4562.
- [9] Deng W M, Ruohola-Baker H. Laminin A is required for follicle cell-oocyte signaling that leads to establishment of the anterior-posterior axis in *Drosophila*. *Current Biology*, 2000, **10**(11): 683 ~ 686.
- [10] Gaino Eida, Massino Mazzini. Follicle cell activity in the ovaries of *Habrophlebia eldae* (Ephemeroptera: Leptophlebiidae). *Trans Am Microsc Soc*, 1990, **109**(3): 300 ~ 310.
- [11] Huebner E. Oocyte-follicle cell interaction during normal oogenesis and atresia in an insect. *J Ultrastructure Res*, 1981, **74**: 95 ~ 104.

图版 I 说明

1. 卵巢小管结构, 示端丝(Tf)、卵原区(G)和生长区(V) × 420; 2. 卵原区的卵母细胞 × 720; 3. 卵子发生第2阶段, 可见较大的胚泡及核仁(Nu) × 720; 4. 卵子发生第2阶段, 滤泡细胞(箭头)存在于卵母细胞之间 × 420; 5. 卵子发生第3阶段, 滤泡细胞(Fc)扁平形, 形成一层包围卵母细胞 × 420; 6. 卵子发生第4阶段, 滤泡细胞(Fc)呈立方形, 胚泡(N)移向后端 × 420; 7. 卵子发生第5阶段, 滤泡细胞(Fc)之间及滤泡细胞与卵母细胞(Oo)之间出现空隙(箭头) × 420; 8. 卵子发生第5阶段, 卵母细胞(Oo)边缘开始沉积有卵黄颗粒(箭头) × 480

图版 II 说明

9. 卵子发生第6阶段, 卵母细胞(Oo)中积累大量的卵黄颗粒 × 420; 10. 卵子发生第7阶段, 核内物质分散, 胚泡(箭头)开始破裂 × 420; 11. 卵子发生第7阶段, 胚泡破裂(箭头) × 420; 12. 卵子发生第8阶段, 卵黄膜(Vm)形成 × 720; 13. 卵子发生第9阶段, 卵壳(Ch)形成 × 720; 14. 成熟的卵母细胞, 示卵壳(Ch)和卵黄膜(Vm) × 420; 15. 卵子发生中的卵母细胞的凋亡 × 480

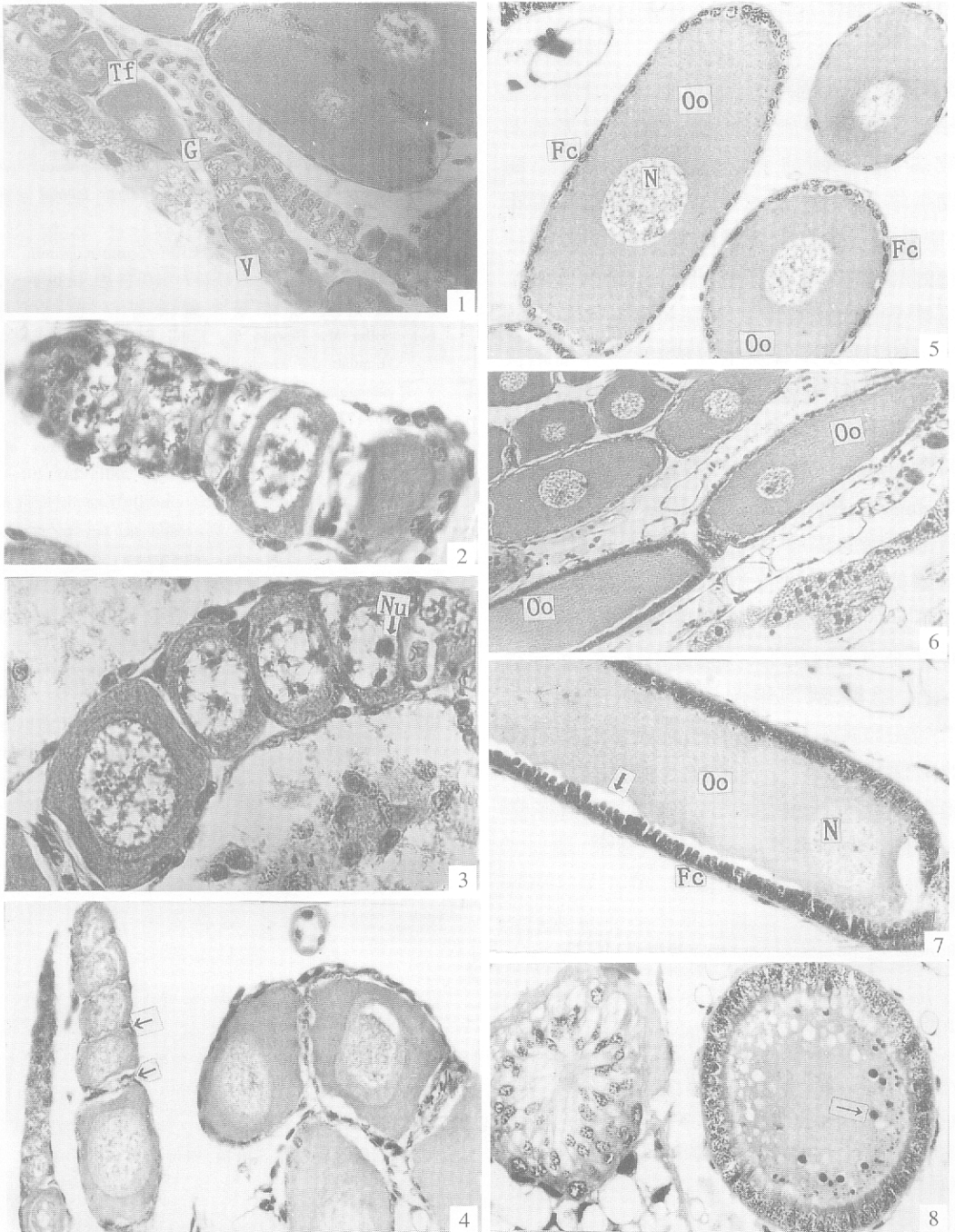
何建平等:黄胫小车蝗卵子发生及卵母细胞凋亡的显微观察

图版 I

HE Jian-Ping *et al.*: Studies on the Microstructure of Oogenesis and Oocyte

Apoptosis of *Oedaleus infernalis*

Plate I



图版说明见文后

何建平:黄胫小车蝗卵子发生及卵母细胞凋亡的显微观察

图版 II

HE Jian-Ping *et al.*: Studies on the Microstructure of Oogenesis and Oocyte

Apoptosis of *Oedaleus infernalis*

Plate II

