

昆虫孤雌生殖中中心体的组装和意义

杨璞 祝增荣* 商晗武¹ 程家安

(浙江大学昆虫科学研究所, 水稻生物学国家重点实验室, 杭州 310029; ¹ 中国计量学院, 杭州 325600)

摘要 中心体是动物细胞主要的微管组织中心(microtubule organizing center, MTOC), 负责组织纺锤体。近年来, 关于昆虫卵母细胞减数分裂后中心体形成的深入研究对阐明昆虫孤雌生殖的过程和机制以及了解孤雌生殖的进化和形成具有重要意义。综述了第一次有丝分裂纺锤体的形成、中心体的装配以及中心体对于昆虫孤雌生殖的意义, 表明昆虫孤雌生殖的普遍模式就是在没有精子提供中心粒的情况下, 卵子通过新形成的中心体进行有丝分裂, 中心体自我组装限制的解除可能是进行孤雌生殖的转折点。

关键词 孤雌生殖; 有丝分裂; 中心体; 纺锤体; 组装

二倍体(2N)有性生物是地球生物的最主要形式, 但有些生物的染色体常有加倍或减半现象。特别是在昆虫纲中的一些类群中, 加倍现象表现特别突出, 如鞘翅目象甲科 Curculionidae 的多倍体类型最为丰富。在绝大多数情况下, 动物染色体的这种加倍现象是与孤雌生殖(parthenogenesis)紧密相联系的。研究表明, 多倍体的动物个体通常只能靠孤雌生殖或无性生殖来维持^[1]。目前对孤雌生殖过程中染色体的分离了解得比较多^[2], 但是对卵母细胞在未受精的情况下如何组装有丝分裂的纺锤体进行胚胎发育并不十分清楚。

纺锤体是细胞进行分裂的关键细胞器, 在动物细胞中, 中心体被认为是微管组织中心(microtubule organizing center, MTOC), 是纺锤体装配所必须的。在两性生殖中, 卵子受精后进行有丝分裂的中心体是由精子中心粒和卵子中心粒周围物质(pericentriolar material, PCM)构成的(小鼠等一些特例除外), 精子中心粒成为两性生殖动物卵子发育的限制因子^[3]。然而, 在孤雌生殖中, 情况却大有不同。研究发现, 昆虫未受精的孤雌生殖的卵子, 在没有精子提供中心粒的情况下, 也能组装有丝分裂的纺锤体, 将复制的染色体平均分配到子代细胞中, 进行胚胎发育^[3-6]。例如, 膜翅目昆虫^[4,5]、双翅目果蝇 *Drosophila mercatorum*^[6]、同翅目蚜虫 *Acyrtosiphon pisum*^[3]、弹尾目弹尾虫 *Folsomia candida*^[7]等在卵母细胞减数分裂晚期通过自我组装中心体形成第一次有丝分裂的纺锤体, 进行胚胎发育。

昆虫在卵母细胞进行减数分裂时丢失了中心

体^[3,7,8], 中心体在减数分裂完成后的自发组装对于昆虫进行孤雌生殖至关重要。本文主要就孤雌生殖昆虫有丝分裂纺锤体的组装、中心体的形成以及中心体对于纺锤体形成和孤雌生殖的意义进行综述, 通过介绍昆虫孤雌生殖的最新研究进展, 为了解孤雌生殖形成的机制、孤雌生殖的进化和孤雌生殖昆虫的扩散提供有价值的信息。

1 纺锤体的形成

微管是细胞骨架系统的重要组成部分, 它可以由特殊的细胞结构组织形成空间分布, 这对于细胞分裂和很多生命活动至关重要。Pickett-Heaps^[9]将此特殊结构定义为MTOC, 中心体是动物细胞主要的微管组织中心。Lüders等^[10]认为微管组织中心是一种短暂的可塑的空间结构, 能促成 γ -微管蛋白凝集(nucleate)成微管, 并且锚定微管的负极, 这种作用并不只限于中心体, 细胞中存在多种微管组织中心, 包括有丝分裂的染色体, 都可以组织纺锤体。

1.1 依赖中心体的有丝分裂纺锤体形成途径

中心体是动物细胞主要的微管组织中心, 通常位于间期的周围。在细胞分裂前期, 中心体周围开始大量装配微管, 并以中心体为核心向四周发散形成星体(aster)。星体向细胞两极移动, 星体微管与染色质相互作用形成细胞分裂的纺锤体(spindle)。膜翅目

收稿日期: 2007-11-19 接受日期: 2008-02-29

国家重点基础研究发展计划(973计划)(No.2002CB111403-3)和国家自然科学基金(No.30571241)资助项目

* 通讯作者。Tel/Fax: 0571-86971623, E-mail: zrzh@zju.edu.cn

昆虫(包括蚂蚁、蜜蜂、黄蜂)可以在没有精子提供中心粒的情况下,重新形成中心体,组装有丝分裂的纺锤体,进行孤雌生殖的胚胎发育^[4,5]。

膜翅目昆虫进行的孤雌生殖称为单倍二倍体(haplodiploidy),未受精的卵发育成雄虫,受精卵发育成雌虫^[4,5]。Riparbelli等^[11]对骚扰角蝇金小蜂*Muscidifurax uniraptor*的研究发现,未受精的*M. uniraptor*的卵母细胞被激活后,在发生前三次有丝分裂和减数分裂时,细胞质中出现大量星体阵列(array),这些星体核心含有中心粒和很多中心体物质,包括 γ -微管蛋白。这清楚地说明进行孤雌生殖的卵子可以单独组装中心体,形成有丝分裂的纺锤体,进行孤雌生殖。

Riparbelli等^[11]的研究表明了昆虫进行孤雌生殖的细胞学基础,即在无精子提供中心粒的情况下,卵母细胞在减数分裂晚期通过重新形成中心体,装配有丝分裂的纺锤体进行胚胎发育。那么这种现象在受精卵中是否也存在呢?Tram等^[4]研究了丽蝇蛹集金小蜂*Nasonia vitripennis*的中心体遗传,发现不论受精卵还是未受精的金小蜂卵,在减数分裂II过程中,皮层都出现大量星体(图1a,图1e),在孤雌生殖的卵中,雌原核只获得其中的两个星体(图1c),装配有丝分裂的纺锤体;而受精卵中,只有精子的两个星体与合子

相连(图1f,图1g),组装有丝分裂的纺锤体。从而使受精的丽蝇蛹集金小蜂卵继承了父源中心体(paternal centrosome)(图1h),而未受精的丽蝇蛹集金小蜂卵继承了母源中心体(图1d)。既然受精的丽蝇蛹集金小蜂卵中也存在细胞质星体,假设这些星体都具有中心体活性,那么它们与父源中心体之间将会存在竞争,这些母源中心体(maternal centrosome)是如何被阻止参与形成合子细胞分裂的纺锤体的呢?

Tram等^[4]认为星体一旦与卵核被膜连接,将形成复杂稳定的微管网络,使它们的连接更加稳定,而且还阻止了其余星体与雌原核的连接(图1c,图1f)^[3,4]。在受精卵中,精子星体与雌原核的连接发生在卵子细胞质星体迁移之前,从而阻止了雌原核与卵子细胞质星体的连接。其余未与雌原核连接的母源细胞质星体在第一次有丝分裂后消失,可能还存在一种机制使这些多于的星体失活,从而保证了适当的中心体数量,使细胞能够正常分裂^[4]。这些结果表明孤雌生殖的昆虫,不但存在重新形成中心体的途径,还存在一种调节中心体在第一次减数分裂后沉默消失的机制。中心体的形成与失活保证了孤雌生殖胚胎发育的正常进行。

Riparbelli等^[12]对果蝇的研究发现,大部分人工激活的果蝇卵子可以自发形成中心体,只是星体的形成

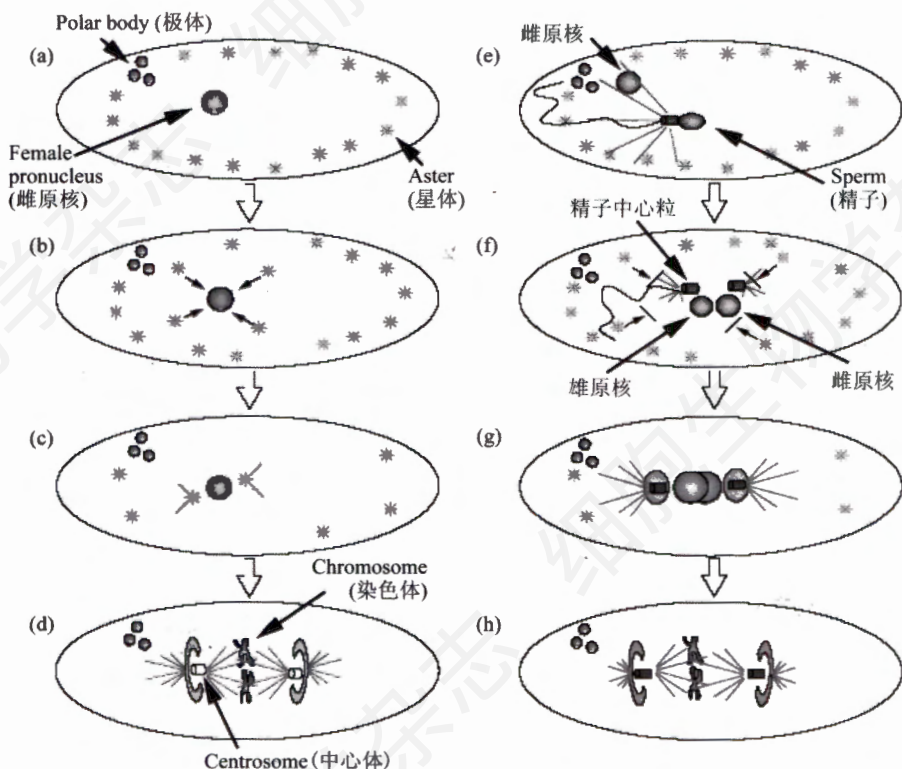


图1 孤雌生殖和两性生殖的卵母细胞减数分裂晚期至第一次有丝分裂的过程^[5]

a~d: 未受精的卵子通过卵母细胞质星体,形成中心体进行第一次有丝分裂; e~h: 受精卵利用精子中心体进行第一次有丝分裂。

只限制在卵的前半部分。这说明果蝇存在进行孤雌生殖的潜力。中心体自我组装限制的解除可能是进行孤雌生殖的界限, 而减数分裂II后期出现的母源细胞质星体可能是进行孤雌生殖的普遍机制。

1.2 不依赖中心体的有丝分裂纺锤体形成途径

关于昆虫未受精的卵子形成有丝分裂的纺锤体是否存在不依赖中心体的途径一直很有争议^[3]。通过对果蝇和膜翅目昆虫的研究, 曾认为早期的胚胎发育需要中心体形成纺锤体^[4,5]。然而, de Saint Phalle 等^[13]研究发现, 未受精的蕈蚊 *Sciara* 由微管在染色体或者染色体附近凝集成无星体纺锤体, 与正常受精的胚胎一样进行有丝分裂。但是细胞分裂产物之间的距离小, 细胞核拥挤在一起, 不能迁移到皮层(cortex), 这可能是由于缺乏中心体, 没有形成星体微管的原因。

Marescalchi 等^[14]用 γ -微管蛋白抗体检测了竹节虫 *Bacillus* 卵母细胞的整个减数分裂过程, 并没有检测到 γ -微管蛋白, 也没有发现一个星体。孤雌生殖竹节虫第一次有丝分裂的纺锤体起源于核染色质附近的微管。卵巢和卵黄腺透射电镜(TEM)切片同样也没有发现卵母细胞中存在中心体。同时研究发现, 两性生殖的竹节虫卵母细胞也是这样。这些研究结果明确说明了孤雌生殖的竹节虫卵母细胞减数分裂和第一次有丝分裂纺锤体的形成并不依赖于中心体。

那么两性生殖竹节虫的合子发育是否由精子提供中心粒呢? Marescalchi 等^[14]的研究指出, 精原细胞和精母细胞中有 γ -微管蛋白, 然而在成熟的精子中没有 γ -微管蛋白。精子的 TEM 切片也表明, 初级精母细胞在纺锤极有一个正常的中心体, 在次级精母细胞中, 只有一个中心粒, 但在成熟的精子中消失。这说明精子并不为受精卵提供中心体, 受精卵进行有丝分裂的纺锤体可能只由雌原核组装形成。Marescalchi 等检查了孤雌生殖和两性生殖的有丝分裂过程, 同样都没有发现星体, 而是由微管组织成双极纺锤体, 但是在纺锤极一直都能检测到 γ -微管蛋白, 从早期的生殖细胞原基(early germ anlage)到后来的发育阶段。他们的研究表明, 不论孤雌生殖还是两性生殖的竹节虫, 第一次有丝分裂纺锤体都是起源于雌原核的染色质, 这个过程并不需要中心体的参与。如果不算雌雄原核的融合过程, 竹节虫的孤雌生殖和两性生殖过程基本上是一样的, 精子好像仅仅提供了另外一套染色体。

昆虫的未受精卵组装非星体的双极纺锤体并不奇怪, 因为黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 的 *polo*

突变体^[15]和 *centrosomin* 突变体^[16]胚胎可以通过排列和聚焦(sorting and focusing)反向平行的微管射线形成锥形的非星体纺锤体, 但是这种纺锤体的空间分布和移动都受影响, 染色体分离紊乱, 不能发育^[3]。尽管竹节虫第一次有丝分裂纺锤体起源于雌原核的染色质, 但是在以后的有丝分裂过程中需要 γ -微管蛋白的参与(γ -微管蛋白是成熟中心体的标志)^[14,17]。中心体对于动物细胞有丝分裂纺锤体的装配以及染色体的精确分离具有重要作用。

2 中心体的形成

中心体由一对相互垂直的中心粒和外围的电子致密物质——PCM 构成^[3,4,14]。在两性生殖的配子形成过程中, 精子中心体失去了 PCM 和凝集(nucleate)微管的能力, 保留了中心粒和它的复制能力; 卵子则丢失了中心粒和复制能力, 保留了 PCM, 这些成份分散在整个细胞质中, 未受精卵由于缺少中心体, 如果没有精子提供中心粒是不能发育的^[3]。显然, 这个两性生殖的模式并不能解释孤雌生殖的发生, 昆虫在卵母细胞进行减数分裂时就丢失了中心体^[3,7,8], 那么孤雌生殖的昆虫是如何在卵母细胞完成减数分裂后重新形成中心体进行细胞分裂的?

对果蝇和膜翅目昆虫的研究发现, 未受精的卵中纺锤体的形成依赖于卵被激活后, 减数分裂晚期中心体的自我组装。对胎生豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* 的研究表明^[3,8], 孤雌生殖的豌豆蚜卵母细胞能够通过微管形成的星体组装中心体。一旦豌豆蚜卵母细胞形成减数分裂中期纺锤体, 细胞质中就会出现 1~3 个小的星体, 它们并不与染色质相连, 这些星体在减数分裂的早期从未出现过, 星体核心也没有中心体, 它们可以持续到第三、四次有丝分裂。第一次有丝分裂时只有两个星体的微管射线与核被膜相连, 组装纺锤体。Riparbelli 等^[3]用 γ -微管蛋白抗体检测发现, 在前期的卵母细胞中、锥形的纺锤极以及处于减数分裂中期的细胞质中, 都没有发现 γ -微管蛋白; 减数分裂结束时, 细胞质中出现的较大星体的核心里面存在 γ -微管蛋白, 在早期有丝分裂时的纺锤极和细胞质星体中也有 γ -微管蛋白。Riparbelli 等^[3,8]的研究结果说明, 蚜虫卵母细胞的减数分裂纺锤体的形成是不依赖于中心体的, 卵母细胞中星体的组装也是不依赖于中心体而自我组装的。

Riparbelli 等^[3]发现, 从减数分裂中期到末期, 星体的数量为 1~4, 在第一次有丝分裂过程中, 星体数

量为3~8,第2~4次有丝分裂时,星体数量为2~4。也就是说在第一次有丝分裂时,星体的数量基本上要比减数分裂时增加一倍,然后减少,直至基本上不变。这些星体是复制的还是重新组装的呢?Riparbelli等用 β -和 γ -微管蛋白抗体标记星体,观察发现这些星体只有一个核心,没有观察到两个相互靠近的星体,这表明第一次有丝分裂时的星体不是由原来星体复制产生的,而是重新装配形成的。在第二次有丝分裂时,可以看到成对的星体,即复制的星体,说明中心体在这时才开始复制。由此说明,孤雌生殖的豌豆蚜卵母细胞,可能利用微管形成类似星体的结构,促使外中心粒物质和中心体前体在星体核心积累,并导致真正中心体的形成,该中心体在以后的有丝分裂过程中组装纺锤体并具有复制能力。

Riparbelli等^[7]对弹尾虫(collembolan)白符蚧 *Folsomia candida* 的研究也发现,孤雌生殖的白符蚧可以利用微管自发组装星体,星体与雌原核染色质相互作用,形成第一次有丝分裂的纺锤体。但是在蚜虫或者弹尾虫的受精卵中,并不出现细胞质星体,未受精的弹尾虫和蚜虫卵母细胞质中出现星体可能是孤雌生殖昆虫中心体形成的保守模式。推测这个过程中寡聚马达蛋白(motor)复合物起到了重要作用,它把那些随机集结的微管交联并组装成星体结构^[3,19,20],从细胞质中聚集(recruit)中心体蛋白和中心粒亚单位,使它们在星体中心汇聚,星体的中心为中心体的形成提供了一个稳定的环境。

膜翅目昆虫、果蝇、蚜虫和弹尾虫等亲缘关系较远的几种昆虫都是通过自发组装星体,聚集中心粒前体蛋白(centriole precursors)和PCM^[3],表明存在中心体组装的共同途径。

3 中心体与孤雌生殖

尽管有证据表明,果蝇卵母细胞减数分裂以及竹节虫有丝分裂纺锤体的最初形成是依赖于非中心体的微管组装途径^[3,7,21],但是动物细胞需要有中心体进行细胞分裂。中心体对于维持纺锤体的空间定位和保证纺锤极的复制具有关键作用,脊椎动物细胞没有中心体时通常停留在有丝分裂末期,不能进行细胞质分裂^[7,22,23]。

孤雌生殖的多样化表明了昆虫两性生殖的高度可塑性,对于孤雌生殖机制的认识也有赖于对于两性生殖的深入了解。螭虫动物(echiurans)、软体动物(molluscs)、棘皮动物(echinoderms)在完成减数分裂

后卵母细胞即丢失了中心体,而昆虫则在卵母细胞进行减数分裂时丢失了中心体^[3,7,8]。中心体的丢失或沉默成为两性生殖中限制卵子进行胚胎发育的关键因素。Zhang等^[24]用细胞松弛素B(cytochalasin B)抑制海星 *Asterina pectinifera* 极体的排出,受精后,极体中心体都能复制,并且形成细胞的分裂极,表明它们并不受精子中心体的抑制,卵母细胞中心体的选择性丢失是由于中心体本身的内部机制造成的。

卵母细胞中心体的选择性丢失抑制了动物在没有精子提供另外一套染色体的情况下自发发育。雌雄原核染色体的共同存在和不同表达对胚胎的正常发育是必不可少的^[25,26]。对哺乳动物单性生殖的研究发现,哺乳动物卵子经过人工激活后,仅能产生有限的发育,孤雌胚胎在数天内即死亡^[25,27]。

Kono等^[28]剔除了未生长的卵母细胞基因组中印记基因 *H19*,使本来在母源基因组中被抑制的基因得到表达,补偿了父源基因组的作用,胚胎移植后,得到了能够生长到成年并有繁殖能力的孤雌小鼠。推测有一种内部机制阻止了两性生殖向孤雌生殖的转变,这种机制可能修饰了母源基因组,沉默了卵母细胞的中心体,并阻止中心体的重新形成。昆虫的孤雌生殖则突破了两性生殖中阻止中心体自我组装的内部控制点,驱动减数分裂恢复的内部信号引起一系列变化,使管射线形成星体结构,外中心粒物质和中心体前体在星体核心积累,导致真正中心体的形成。在一些昆虫中,孤雌生殖可能最初偶然发生,通过星体缓慢、不准确的自我组装,逐渐形成中心体组装的途径。

4 小结和展望

昆虫的孤雌生殖通常是和多倍体(polyploidy)以及杂交(hybridization)相联系的^[29]。有证据表明,多倍体孤雌生殖的昆虫起源于二倍体两性的祖先^[1],孤雌生殖的多倍体昆虫增加了遗传的稳态平衡,表现出很强的生态耐受性,比有性生殖昆虫扩散能力强、地理分布广^[1,29-31]。比如原产北美洲密西西比河流域、上世纪五十年代传入加州、上世纪八十年代末传入东北亚的日本列岛、朝鲜半岛、中国、最近又在意大利发现的三倍体孤雌生殖的稻水象甲 *Lissorhoptrus oryzophilus* Kuschel (Coleoptera: Curculionidae),现已扩散至亚欧广大地区,成为严重的水稻害虫^[32]。深入研究昆虫孤雌生殖的过程和机制,将有助于了解昆虫繁殖和扩张的机理,对于阻断

检疫性害虫的扩散蔓延并控制危害具有重大意义。

目前,对昆虫孤雌生殖的研究发现昆虫纲中亲缘关系较远的多种昆虫的孤雌生殖有相似的细胞学过程,这暗示孤雌生殖可能存在进化上的保守模式。中心体自我组装限制的解除可能是进行孤雌生殖的转折点,而减数分裂晚期出现的细胞质星体可能是进行孤雌生殖的普遍模式。

孤雌生殖有丝分裂纺锤体的形成是一个复杂的过程,这与两性生殖有很大不同,但是孤雌生殖和两性生殖的差别在于相应机制激活的调控,而不是有丝分裂纺锤体装配过程本身。目前,对于昆虫孤雌生殖的研究大多停留在细胞学水平,对于孤雌生殖的起源和形成原因以及相应的激活调控机制仍然没有突破。

植物中已经发现了一些基因的突变体,在未受精的情况下形成胚乳并进行种子发育^[33-35],这些基因的调控机制是否也存在于昆虫中值得进一步研究。此外,中心粒自我复制的性质提示它们可能是自主复制的细胞器,中心粒是否含有DNA尚有待证实。

参考文献(References)

- [1] 李绍文. *昆虫知识*, 2002, **39**: 147
- [2] 刘庆法. *生物学通报*, 1986, **9**: 16
- [3] Riparbelli MG *et al. Dev Biol*, 2005, **278**: 220
- [4] Tram U *et al. Curr Biol*, 2000, **10**: 1413
- [5] Karr TL. *Curr Biol*, 2001, **11**: R21
- [6] Heifetz Y *et al. Dev Biol*, 2001, **234**: 416
- [7] Riparbelli MG *et al. Cell Tissue Res*, 2006, **326**: 861
- [8] Riparbelli MG *et al. J Cell Sci*, 2005, **118**: 2827
- [9] Pickett-Heaps J D. *Cytobios*, 1969, **3**: 257
- [10] Lüders J *et al. Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, **8**: 161
- [11] Riparbelli MG *et al. Dev Biol*, 1998, **195**: 89
- [12] Riparbelli MG *et al. Dev Biol*, 2003, **260**: 298
- [13] de Saint Phalle B *et al. J Cell Biol*, 1998, **141**: 1383
- [14] Marescalchi O *et al. Mol Reprod Dev*, 2002, **63**: 89
- [15] Riparbelli MG *et al. J Cell Sci*, 2000, **113**: 3341
- [16] Megraw TL *et al. Development*, 1999, **126**: 2829
- [17] Wu X *et al. Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96**: 1397
- [18] Hyman A *et al. J Cell Sci*, 1998, **111**: 2077
- [19] Verde F *et al. J Cell Biol*, 1991, **112**: 1177
- [20] Nédélec FJ *et al. Nature*, 1997, **389**: 305
- [21] Wadsworth P *et al. Trends Cell Biol*, 2004, **14**: 413
- [22] Hinchcliffe EH *et al. Science*, 2001, **291**: 1547
- [23] Piel M *et al. Science*, 2001, **291**: 1550
- [24] Zhang QY *et al. Dev Biol*, 2004, **266**: 190
- [25] 刘红临. *遗传*, 2000, **22**: 269
- [26] 侯晓军等. *遗传学报*, 2005, **32**: 550
- [27] 刘红临等. *动物学杂志*, 1994, **14**: 50
- [28] Kono T *et al. Nature*, 2004, **428**: 860
- [29] Kearney M. *Trends Ecol Evol*, 2005, **20**: 495
- [30] Stenberg P *et al. Mol Biol Evol*, 2003, **20**: 1626
- [31] Stenberg P *et al. Agrid Forest Entomol*, 2004, **6**: 259
- [32] 祝增荣等. 见: 万方浩等主编. *主要农林入侵生物的生物学与控制*, 北京: 科学出版社, 2004, 129
- [33] Grimanelli D *et al. Trends Genet*, 2001, **17**: 597
- [34] Grossniklaus U *et al. Curr Opin Plant Biol*, 2001, **4**: 21
- [35] Lohe AR *et al. Curr Opin Plant Biol*, 2002, **5**: 19

Assembly and Significance of Centrosome during Parthenogenesis of Insects

Pu Yang, Zeng-Rong Zhu*, Han-Wu Shang¹, Jia-An Cheng

(State Key Laboratory of Rice Biology, Institute of Insect Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China;

¹China Jiliang University, Hangzhou 310018, China)

Abstract Centrosome is the main microtubule organizing center, and organizes the spindle of mitosis. Recent studies on the centrosome organization after meiosis of insect oocyte may contribute to understand the cytological process and mechanism, evolution and formation of parthenogenesis in insects. We review the pathways of the first mitosis spindle assembly, organization of centrosome and the significance of centrosome in insect parthenogenesis. A key feature of parthenogenesis in insects is that mitosis is based on the reassembled centrosomes without contribution from sperm centriole. It may be speculated that the release of the block preventing centrosome self-organization could be a landmark for ensuring parthenogenesis.

Key words parthenogenesis; mitosis; centrosome; spindle; organization

Received: November 19, 2007 Accepted: February 29, 2008

This work was supported by the National Basic Research Program of China (973 Program) (No.2002CB111403-3) and the National Natural Science Foundation of China (No.30571241)

*Corresponding author. Tel/Fax: 86-571-86971623, E-mail: zrzhu@zju.edu.cn