

棉铃虫交配过程中精子的转移^{*}

刘绪生 李国清 陈长琨

(南京农业大学植物保护学院 南京 210095)

摘要: 统计了棉铃虫交配前后贮精囊、复射精管和精包内真核精子(束)的数量,以此来验证棉铃虫交配过程中是否存在精子回流现象。结果表明,棉铃虫在交配时将复射精管内的精子全部转移至雌蛾体内,不存在精子回流现象。

关键词: 棉铃虫;精子;转移;精子回流

中图分类号: Q492 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2003)03-26-03

Sperm Transfer in the Cotton Bollworm

LIU Xu-Sheng LI Guo-Qing CHEN Chang-Kun

(College of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: In order to test whether sperm reflux occurs in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*, the numbers of eupyrene in the sperm reservoir, duplex ejaculatory duct and spermatophora before and after copulation were counted. The results show that there is no sperm reflux; all sperm in the duplex ejaculatory duct are transferred to the female's body.

Key words: *Helicoverpa armigera*; Sperm; Transfer; Sperm reflux

以前的研究者一直认为雄蛾在交配时将复射精管内的精子全部转移至雌蛾体内^[1~3]。但 Proshold 等^[4]却发现舞毒蛾(*Lymantria dispar*)雄蛾能在 8 h 之内成功地交配两次,因此他们推测舞毒蛾在第一次交配时并不将复射精管内的精子全部转入雌蛾体内,而只是其中的一部分。后来 Hiriyosh 在研究多角蛱蝶(*Polygonia c-aureum*)时也发现,雄蛾并不在一次交配时将贮存在复射精管中的精子全部射入雌蛾体内:交配一开始,存在于复射精管中的约半数精子回流到贮精囊中,但不久即结束,复射精管中剩余的精子被射入雌蛾体内。交配结束后不久,回流到贮精囊中的精子又转移到复射精管中^[5]。Hiriyosh 将此种现象命名为精子回流(sperm reflux),并认为 Hennebery 等^[1]虽然观察到烟芽夜蛾(*Heliothis virescens*)交配后复射精管内无精

子,但没有证据证明有些精子没有回流至贮精囊,因而不能确认烟芽夜蛾在交配时将复射精管内的精子全部射入雌蛾体内。Hiriyosh 进一步推测精子回流现象在鳞翅目昆虫中应是普遍的^[6]。本文研究了棉铃虫(*Helicoverpa armigera*)交配过程中精子的转移情况,以此来确定棉铃虫交配时是否具有精子回流现象。

1 材料与方法

1.1 试虫饲养 供试棉铃虫于 1996 年秋天采自新疆阿克苏地区田间,室内累代饲养。养虫

^{*} 国家自然科学基金资助项目(No. 39800091);

第一作者介绍 刘绪生,男,26岁,现为中科院动物研究所博士研究生;研究方向:生殖生物学;E-mail: liuxusheng@yahoo.com.cn。

收稿日期:2002-04-20,修回日期:2003-03-10

室温度为 $(28 \pm 1)^\circ\text{C}$,相对湿度为75%~80%,光周期14:10(光照:黑暗)。成虫饲养参照Armes等^[7]和陈长琨等^[8]的方法,羽化后饲以100 g/L蔗糖水,经过3昼夜的群体交配后,雌蛾放于20 cm × 15 cm × 15 cm的饲养笼内产卵。每隔24 h收集产于笼口纱布上的卵,放于待孵瓶中2 d,待卵发育后转入具有人工饲料的饲养皿中,至3龄时分管单头饲养。

1.2 试验设计 成虫羽化后将雌、雄蛾分别饲养于20 cm × 15 cm × 15 cm的饲养笼内,用瓶口塞有脱脂棉的小玻璃瓶装以100 g/L蔗糖水饲养,蔗糖液每隔2 d更换。(1)将30对2日龄的雌、雄蛾于晚上配对,并取出5只未交配的雄蛾解剖出贮精囊、复射精管,另外分别解剖5只交配结束后10 min和交配结束后1 h的雄蛾,取出贮精囊、复射精管;(2)将一些雌蛹放于20℃下一段时间,使其比正常的雄蛹迟3天羽化,待其2日龄时与5日龄的雄蛾配对,余下步骤同(1);(3)将30对3日龄的雌、雄蛾于晚上配对,取出5只未交配的雄蛾解剖出复射精管,另解剖10只交配刚结束的雌蛾,取出精包,5只用于涂片,另5只用于计数单个精子的数量。

1.3 精子束的数量统计^[9] 采用改进的浮尔根涂片法。先将载玻片用蜡笔划出方框,并计算出面积。把解剖出的贮精囊等置于蜡笔框内,均匀涂片后进行浮尔根染色。在固定的显微镜下,5点取样,统计精子束的数量。

1.4 精包内单个真核精子的数量统计 参照He等^[10]的方法,利用血球计数板统计精包内单个真核精子的数量:将解剖出的精包置于载玻片上,滴加一滴生理盐水,用针挑破其外壁,待内含物完全流出后,将载玻片上的液体转入1.5 ml的离心管内,并用少量的生理盐水冲洗载玻片三次,冲洗液也转入离心管内,定容到0.5 ml(当精子密度大时可适当稀释),于摇床上震荡15 min,使其充分混匀,然后吸取10 μl混匀液,滴加于血球计数板上,在显微镜下统计精子的数量。每份混匀液统计两次,取其平均值。

2 结果与分析

2.1 雄蛾两次有效交配的间隔时间 在黑暗中将交配刚结束的雄蛾与处女雌蛾配对(30对),12 h后解剖所有雌蛾,其中12头雌蛾的交配囊内有不正常的精包,形状小而皱缩,内面无精液;而将交配结束24 h的雄蛾与处女雌蛾配对(30对),12 h后解剖所有雌蛾,其中15头雌蛾交配囊内有正常的精包,形状大而饱满,内有乳白色精液。上述结果说明,雄蛾第一次交配后,在12 h之内不能成功地进行第二次交配,两次有效交配的间隔时间需要24 h。

2.2 2日龄雄蛾交配过程中真核精子束的转移 2日龄雄蛾在交配前复射精管内平均有353个真核精子束,交配结束后10 min和1 h复射精管内的真核精子束数量均为0(表1),在解剖时也观察到交配后复射精管、附腺和精包腺均排空,呈透明状。贮精囊内精子束数量在交配前后基本相同。这表明棉铃虫在交配时将复射精管内的精子全部射入雌蛾体内,并没有保留。

表1 棉铃虫2日龄雄蛾交配前后贮精囊和复射精管内真核精子束的数量

| 时间 | 贮精囊 | 复射精管 |
|-----------|----------|-----------|
| 交配前10 min | 78 ± 23 | 353 ± 102 |
| 交配后10 min | 107 ± 16 | 0 |
| 交配后1 h | 94 ± 19 | 0 |

2.3 5日龄雄蛾交配过程中真核精子束的转移 从表2可以看出,5日龄雄蛾在交配前复射精管内平均有多达1095个真核精子束,交配结束后10 min和1 h复射精管内的真核精子束数量均为0,贮精囊内精子束数量在交配前后也基本相同。表明5日龄棉铃虫在交配时也将如此之多的精子束全部射入雌蛾体内。

表2 棉铃虫5日龄雄蛾交配前后贮精囊和复射精管内真核精子束的数量

| 时间 | 贮精囊 | 复射精管 |
|-----------|----------|-------------|
| 交配前10 min | 122 ± 38 | 1 095 ± 288 |
| 交配后10 min | 109 ± 17 | 0 |
| 交配后1 h | 117 ± 22 | 0 |

2.4 与3日龄雄蛾交配后雌蛾精包内真核精子(束)的数量 3日龄雄蛾交配前复射精管内平均有790个真核精子束。与3日龄雄蛾交配后,雌蛾精包内平均有300个真核精子束和9万个真核精子(每个精子束平均由256个精子组成),相当于有730个真核精子束,与交配前雄蛾复射精管内真核精子束的数量无显著差异,这进一步证明棉铃虫在交配时将复射精管内的精子全部转移至雌蛾体内,不存在精子回流现象。

3 讨论

Hiroyoshi^[5]在研究多角蛱蝶时发现了精子回流现象,认为精子回流对于具多次交配习性的昆虫是有重要作用的,它能让雄蛾在下次交配时有足够的精子供使用。多角蛱蝶在羽化前精子发生已完成,而其又属于成虫滞育型昆虫,精子回流能减低滞育前雄蛾在交配中用完精子的几率,因此滞育解除后雄蛾复射精管中有剩余的精子供产生新的后代。此外多角蛱蝶的输精管较粗,贮精囊较大,因此精子能快速地回流至贮精囊。Hiroyoshi^[6]后来进一步推测精子回流现象在鳞翅目中应是普遍的。

本项研究中,棉铃虫2日龄和5日龄雄蛾与雌蛾交配后复射精管内无精子,交配前后贮精囊内真核精子束的数量没有显著差异;与3日龄雄蛾交配的雌蛾精包内真核精子(束)的数量与交配前雄蛾复射精管内真核精子束的数量无显著差异。由此可以推断,棉铃虫不存在精子回流现象,在交配时将复射精管内的精子全部转移至雌蛾受精囊内。

棉铃虫的情况与多角蛱蝶不同,其输精管很细,贮精囊较小,复射精管相对较大,因此精子要在短时间内大量回流至贮精囊是很困难的。同时棉铃虫复射精管每天能接受244个真核精子束*,即使其交配时将精子用完,至下次交配(至少24h后)时复射精管内仍有足够的精子供使用,因此棉铃虫不需要精子回流这种特殊的精子利用方式。

内生殖系统解剖表明,大部分鳞翅目成虫

生殖系统与棉铃虫相似,即输精管很细,贮精囊小,复射精管较大^[11]。此外,绝大部分鳞翅目昆虫以幼虫或蛹的形式越冬,只有少数以成虫的形式越冬。因此,作者推测精子回流在鳞翅目昆虫中并不是普遍存在的。

参 考 文 献

- [1] Hennebery T J, Clayton T E. Time of emergence, mating, sperm movement, and transfer of ejaculatory duct secretory fluid by *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae) under reversal light-dark cycle laboratory conditions. *Ann Entomol Soc Am*, 1984, **77**: 301 ~ 305.
- [2] Proshold F I. Number of sperm bundles in the duplex of tobacco budworms (Lepidoptera: Noctuidae) as a function of age. *J Econ Entomol*, 1991, **84**: 1485 ~ 1491.
- [3] Lachance L E, Richard R D, Ruud R L. Movement of eupyrene sperm bundles from the testis and storage in the ductus ejaculatoris duplex of the male pink bollworm: effect of age, strain, irradiation, and light. *Ann Entomol Soc Am*, 1977, **70**: 647 ~ 651.
- [4] Proshold F I, Bernon G L. Multiple mating in laboratory-reared gypsy moths (Lepidoptera: Lymantriidae). *J Econ Entomol*, 1994, **87**(31): 661 ~ 666.
- [5] Hiroyoshi S. Regulation of sperm quantity transferring to females at mating in the adult male of *Polygonia c-aureum*. *Appl Entomol Zool*, 1995, **30**: 111 ~ 119.
- [6] Hiroyoshi S. Sperm reflux and its role in multiple mating in males of a butterfly *Polygonia c-aureum* Linnaeus (Lepidoptera: Nymphalidae). *J Insect Physiol*, 1999, **45**: 107 ~ 112.
- [7] Armes N J, Bond G S, Cooter R J. The laboratory culture and development of *Helicoverpa armigera*. *NRI Bulletin*, 1992, **57**: 3 ~ 17.
- [8] 陈长琨, 李国清, 杨洪福等. 三系循环交配法防止人工饲养棉铃虫种质退化的研究. *南京农业大学学报*, 1996, **19**(增): 58 ~ 62.
- [9] 卢中建, 王荫长, 尤子平. 小地老虎真核和无核精子在生殖道中的后期变化. *南京农业大学学报*, 1992, **15**(4): 45 ~ 49.
- [10] He Y, Tanaka T, Miyata T. Eupyrene and apyrene sperm and their numerical fluctuations inside the female reproductive tract of the armyworm, *Pseudaletia separata*. *J Insect Physiol*, 1995, **41**: 689 ~ 694.
- [11] 李汝泽. 昆虫卵巢发育与害虫预测预报. 上海: 复旦大学出版社, 1987.