

# 多次交配对松褐天牛精子数量消耗、产卵量和孵化率的影响

杨洪<sup>1</sup>, 王进军<sup>1,\*</sup>, 赵志模<sup>1</sup>, 杨德敏<sup>2</sup>, 张宏<sup>2</sup>

(1. 西南大学植物保护学院昆虫学及害虫控制工程重点实验室, 重庆 400716;

2. 重庆市森林病虫害防治检疫站, 重庆 402100)

**摘要:** 通过解剖松褐天牛雌虫受精囊和室内饲养观察, 研究了多次交配对松褐天牛雌虫受精囊内精子数量消耗、产卵量、卵孵化率、产卵历期和寿命的影响, 并对松褐天牛雌性生殖系统、精子形态及精子在雌性生殖系统中的分布动态进行了详细的描述, 其结果表明: 多次交配的松褐天牛雌虫受精囊内的精子数量长期保持在 12 万个左右, 而只交配一次的松褐天牛雌虫受精囊内精子数量不断消耗, 交配 16 天后降到 5 万个以下。多次交配的雌虫产卵量 (167.087 0 粒) 和卵孵化率 (94.38%) 都显著大于单次交配雌虫的产卵量 (113.521 7 粒) 和卵孵化率 (83.79%); 但是多次交配的雌虫与单次交配的雌虫相比较, 产卵历期和寿命差异都不显著。

**关键词:** 多次交配; 消耗; 产卵量; 孵化率; 松褐天牛

中图分类号: Q969.485.405; Q492 文献标识码: A 文章编号: 0254–5853 (2006) 03–0286–05

## Effects of Multiple Mating on Quantitative Depletion of Spermatozoa, Fecundity and Hatchability in *Monochamus alternatus*

YANG Hong<sup>1</sup>, WANG Jin-jun<sup>1,\*</sup>, ZHAO Zhi-mo<sup>1</sup>, YANG De-min<sup>2</sup>, ZHANG Hong<sup>2</sup>

(1. Key Laboratory of Entomology and Pest Control Engineering, College of Plant Protection, Southwest Agricultural University, Chongqing 400716, China; 2. Station of Forest Pest Control and Quarantine of Chongqing, Chongqing 400716, China)

**Abstract:** The effects of multiple mating on quantitative depletion of spermatozoa, fecundity and hatchability in *Monochamus alternatus* Hope were investigated by dissecting spermatheca and observing the biological characteristics in the laboratory. The reproductive systems of the female, spermatozoon morphology and dynamic distribution of spermatozoa in female reproductive system were also described in this paper. The results showed that about 120 thousand spermatozoa were always retained in the spermatheca of multiple mating females, but the amount of spermatozoa declined according to the time extension after copulation in the spermatheca of single mating females, and the amount of spermatozoa declined to 50 thousand after 16d. The fecundity (167.087 0) and hatchability (94.38%) of multiple mating females were significantly higher than the fecundity (113.521 7) and hatchability (83.79%) of single mating females. However, the period of reproduction and longevity were not significantly different between multiple and single mating females.

**Key words:** Multiple mating; Depletion; Fecundity; Hatchability; *Monochamus alternatus*

关于昆虫多次交配的动力和适应意义已有许多相关的研究 (Arnqvist & Nilsson, 2000)。鉴于雌雄两性在配子投入上的差异, 雄虫多次交配的益处显而易见; 雌虫多次交配主要有提高自身的适合度、

增加后代遗传多样性和增进生殖成功等 (Arnqvist & Nilsson, 2000)。理论上, 一次交配传输的精子数量足以满足雌虫所有卵受精的需要; 但实际上多数物种在交配结束后由于种种原因, 仅有小部分精

\* 收稿日期: 2005–11–24; 接受日期: 2006–02–24

基金项目: 教育部新世纪优秀人才支持计划 (NCET-04–0854); 重庆市科技攻关计划; 重庆市自然科学基金资助项目

\* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: jjwang7008@yahoo.com, jjwang7008@tom.com

第一作者简介: 杨洪 (1975–), 男, 硕士研究生, 主要从事昆虫生态学研究。

子留在生殖道内；因此，许多昆虫通过多次交配以补充体内的精子供应，从而达到最高产卵量和卵孵化率（Lauer, 1996），如蝗虫（*Eyprepocnemis plorans*）通过多次交配来补充消耗的精子（Lopez-Leon et al, 1993）。然而小菜蛾雌虫是单配制，多次交配并不增加雌虫的产卵量、寿命和卵孵化率（Wang et al, 2005）。总之，多次交配对不同昆虫种类的雌虫精子数量消耗与其产卵量、寿命、孵化率之间的影响各不相同（Trebitt et al, 1988；Sakubai, 1998）。

天牛是鞘翅目中的一大类群，有关天牛的多次交配和精子消耗的研究很少。松褐天牛（*Monochamus alternatus* Hope）是松材线虫病（*Bursaphelenchus xylophilus* Steiner and Buhner）的主要传播媒介，雌成虫有多次交配习性（Xu et al, 1994；Zhang & Lu, 2001；Wang, 2004）。本研究以松褐天牛为对象，研究多次交配对松褐天牛受精囊内精子数量消耗、成虫寿命、产卵量、孵化率的影响，以期为天牛多次交配机理和进化机制的深入研究奠定基础。

## 1 材料与方法

2005年3月，从重庆涪陵采回被松褐天牛危害的马尾松木段（100 cm × 10 cm），放入120 cm × 60 cm × 75 cm的玻璃-纱网养虫笼内。待松褐天牛成虫羽化后立即单头放入直径12 cm、高26 cm的玻璃养虫缸（上底和下底用网纱封口）。于室温下用300 mL三角瓶水培马尾松松枝饲养成虫备用，每3 d更换一次松枝。用直径4—5 cm长约20 cm新鲜马尾松木段作为产卵诱木，3 d更换一次。

### 1.1 雌性生殖系统及精子形态观察

取羽化后10 d的5雌5雄松褐天牛成虫，剪下5头雌虫腹部，置于NaOH液中煮10 min，取出外生殖系统，用双目立体解剖镜观察并绘图；同时在载玻片上解剖雄虫，取出睾丸，针刺破睾丸后，用生理盐水稀释，观察精子的形态并拍照。

### 1.2 单次交配后精子在雌性生殖系统内的分布动态观察

分别于雌虫单次交配（单次交配指成功交配一次，包括交配前求偶、插入、配后保护等完整阶段）后10 min、1、2、4、8、16、32 h解剖出生殖系统，取下生殖腔、交配囊、受精囊，并将其分别置于载玻片上，用解剖针挑破后用0.9%生理盐水

冲洗3次，把冲洗液全部转入1.5 mL离心管内，定容到0.5 mL，摇匀后取10  $\mu$ L混匀液滴于血球计数板上，观察统计精子的数量。每份混匀液统计3次，取平均值。每个观察时间雌虫样本数为7头。

### 1.3 单次和多次交配后，雌性生殖系统内精子数量的观察

雌虫单次（交配一次后移出雄虫）和多次交配（配对饲养）后，分别于不同时间（1、2、4、8、16、32、64 d）解剖观察计数受精囊内精子的数量。每个观察时间雌虫样本数为7头。

### 1.4 单次和多次交配后，雌虫产卵量和孵化率变化的观察

单次交配：选同期羽化后10 d的松褐天牛，以雌雄1:1配对，观察交配情况。取30头成功交配一次的雌虫单独饲养，待雌虫开始产卵后每天记录每头雌虫的产卵量、卵孵化率、产卵历期、成虫寿命。

多次交配：参照Zhang & Lu（2001）对松褐天牛多次交配的描述并根据多次交配的定义，选同期羽化后10 d的松褐天牛，以雌雄1:2配对饲养，待开始产卵后，记录每头雌虫的产卵量、孵化率、成虫产卵历期、成虫寿命。共30个重复。

### 1.5 数据统计分析

用SPSS11.5软件进行统计分析实验获得的数据，并用Excel 2000作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 雌性生殖系统及精子形态

松褐天牛雌性生殖系统包括一对卵巢、一对侧输卵管、中输卵管、交配囊、受精囊管、受精囊、受精囊腺、生殖腔和产卵器（图1）。

松褐天牛受精囊为再出式，缓慢膨大，末端圆滑，颜色较深。受精囊管侧生，着生位置较低。交配囊明显膨大，端部稍小，略弯曲。

松褐天牛精子为鞭毛型，丝状，长0.2 mm左右；头部不明显，颜色较深但仍可分辨（图2）。

### 2.2 单次交配后精子在雌性生殖系统内的分布动态

松褐天牛完整交配一次，雄性输入到雌性体内的精子大约12万个。这些精子由雄性输送到雌性交配囊，在2 h内从交配囊进入受精囊，此后进入受精囊内的精子数量基本不变，在受精囊腺分泌物的滋养下可以长期存活至雌虫死亡。

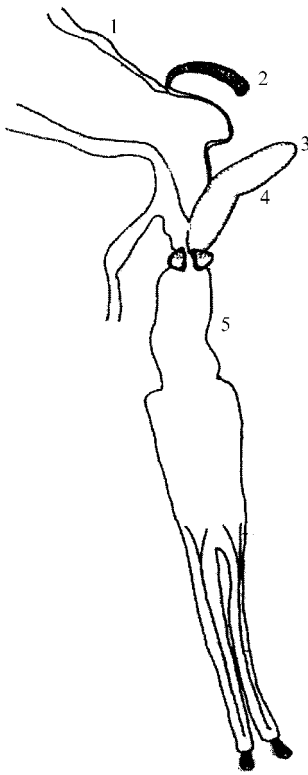


图 1 松褐天牛雌性生殖系统

Fig. 1 Reproductive systems of *Monochamus alternatus*

1. 受精囊腺 (Spermathecal gland); 2. 受精囊 (Spermatheca);
3. 侧输卵管 (Lateral oviduct); 4. 交配囊 (Bursa copulatrix);
5. 生殖腔 (Genital cavity)

成功交配一次后, 松褐天牛雌虫受精囊内的精子数量随着时间的推移而下降, 精子在受精囊内的数量消耗与时间的线性关系为  $y = 82963.05 - 1100.749x$ , ( $R = 0.854$ ,  $P < 0.05$ )。而多次交配的雌虫受精囊内的精子数量始终保持在 12 万个左右, 且不随着时间的延长而降低 (图 3)。说明多次交配对受精囊内精子数量有明显的补充作用。

### 2.3 单次和多次交配后雌虫的产卵量和卵孵化率

松褐天牛多次交配的雌虫, 在开始产卵的 3 周内平均每雌每周产卵 20 粒左右; 3 周以后产卵量呈波形变化, 但是均保持在 20 粒左右波动; 直到 56 d 以后, 产卵量才开始下降。单次交配的雌虫, 3 周以后每周平均产卵量开始急剧下降 (图 4a)。

多次交配和单次交配成虫卵的孵化率在开始产卵后的 4 周基本保持在 90% 以上; 4 周以后, 多次交配雌虫卵的孵化率保持不变, 而单次交配的雌虫卵的孵化率急剧下降 (图 4b)。

此外, 单次交配松褐天牛雌虫一生的产卵量、卵孵化率都显著低于多次交配的松褐天牛雌虫 ( $P$

$< 0.05$ ), 而产卵历期和寿命与多次交配的雌虫相比没有显著差异 ( $P > 0.05$ ) (表 1)。

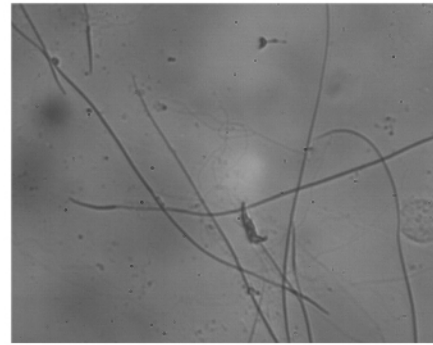


图 2 松褐天牛精子形态 (S4 × PC25)

Fig. 2 Spermatozoon morphology of *Monochamus alternatus*

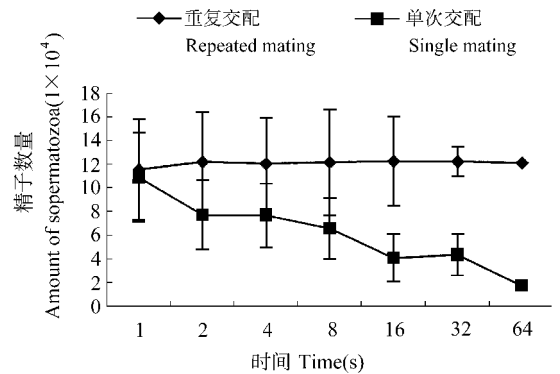


图 3 单次交配与多次交配后, 松褐天牛精子在雌性受精囊内的数量变化 (平均值 ± 标准误)

Fig. 3 Quantitative variation of spermatozoa in spermatheca of *M. alternatus* after multiple and single mating ( $M \pm SE$ )

## 3 讨论

多次交配包括雌虫与同一个雄虫多次交配 (repeated mating) 与不同的雄虫多次交配 (polyandry)。在自然界中, 一个雌虫与同一个雄虫重复交配的现象很少发生。本文通过对雌虫与同一雄虫和不同雄虫多次交配的研究发现, 与多数昆虫一样, 松褐天牛雌虫多次交配对雌虫受精囊内精子的贮藏量有补充作用。有研究表明多次交配能显著提高雌虫的产卵量和卵孵化率 (Thornhill & Alcock, 1983; Arnqvist & Nilsson, 2000), 但据 Zhang & Lu (2001) 的研究结果, 多次交配对松褐天牛雌成虫产卵量和孵化率无显著影响。这与本文研究的结果不一致。原因可能有以下几点: 一是 Zhang & Lu

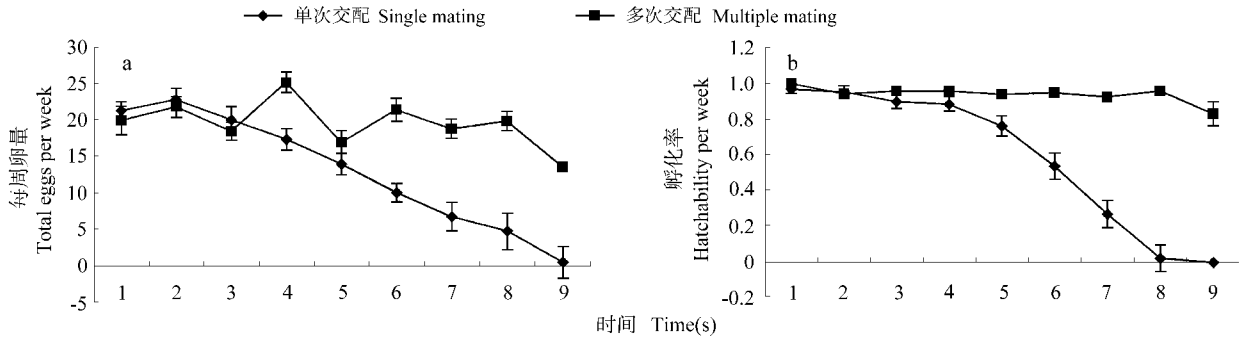


图 4 松褐天牛雌虫单次交配与多次交配的产卵量 (a) 和孵化率 (b) 的变化 (平均值 ± 标准误)

Fig. 4 Variation of fecundity (a) and hatchability (b) between multiple and single mating females of *M. alternatus* (M ± SE)

表 1 松褐天牛雌虫多次交配与单次交配的产卵量、卵孵化率、产卵历期和寿命的差异 (平均值 ± 标准误)

Tab. 1 Variation of fecundity, hatchability, period of oviposition and longevity between multiple and single mating females of *M. alternatus* (M ± SE)

	前 5 周 In first 5 weeks		总产卵量 Total eggs	卵孵化率 Hatchability (%)	产卵历期 Period of oviposition	雌虫寿命 Longevity of female
	周平均产卵量 Eggs laid per week	孵化率 Hatchability (%)				
多次交配 Multiple mating	20.400 0 ± 1.435 5	95.97 ± 1.08	167.087 0 ± 9.187 7*	94.38 ± 2.99*	56.130 00 ± 1.843 0	56.869 6 ± 1.756 2
单次交配 Single mating	19.017 4 ± 1.570 9	89.3 ± 3.61	113.521 7 ± 8.046 8	83.79 ± 14.53	52.217 0 ± 2.188 7	55.956 5 ± 2.429 6

\*  $P < 0.05$  ( $t$ -test).

(2001) 所报道的多次交配实际上是与同一个雄虫重复交配；二是观察产卵仅 39 天，而本实验一直观察到雌成虫死亡。另外，本文为多次交配和单次交配在 5 周以前的产卵量。因此，一次交配与多次交配在总产卵量和卵孵化率的差异显著性是由于 5 周后产卵量和卵孵化率显著变化引起。多次交配能提高雌虫的产卵量的原因可能是交配刺激或者是性腺刺激（如精液的附属物、精液或者交配本身）所致，也有可能是精液的营养作用 (Pitnick et al, 1997; Rooney & Lewis, 1999) 造成。但真正的内在机制尚需进一步的研究。

根据交配一次后开始产未受精卵的时间，Sakubai (1998) 把棒蜂缘蝽 (*Riptortus clavatus*) 的产卵模式分为长、中、短期 3 种。其中短期模式的产卵量与中期和长期模式无显著差异，但受精卵数量显著低于中期和长期模式。黑腹果蝇 [*Drosophila melanogaster* (Meigen)] 在营养条件良好和高产卵量的情况下，其雌虫体内的精子消耗很快 (Trebitt et al, 1988)。多次交配后松褐天牛雌虫受精囊内的精子数量保持在 12 万个左右，其生殖力也显著高

于单次交配的雌虫。松褐天牛雌虫是否存在不同的产卵模式、单次交配的雌虫生殖力的下降是否与精子在受精囊内的消耗有关都需更深入的研究。

多次交配对雌虫寿命的影响原因极为复杂，包括交配行为的物理损伤和精液附带的其他物质等 (Eberhard, 1996)。本研究发现松褐天牛雌虫多次交配并不影响雌虫的产卵历期和寿命，这与“除了交配饲喂 (nuptial feeding) 类型外，多数昆虫随着交配次数的增加，雌虫寿命缩短” (Arnqvist & Nilsson, 2000) 的结论不一致，这或许与本研究中雄虫的竞争压力 (2♂:1♀) 大小有关。

雌性和雄性在生殖过程中都力争生殖成功率最大化。雌性在交配频次的进化过程中仍是积极的参与者 (Liu et al, 2002)，其最佳交配频数反映了交配与投资和收益的权衡 (Arnqvist & Nilsson, 2000)。本研究表明，雌性松褐天牛多次交配有明显的直接收益。但需进一步研究的问题是，雌性天牛在多次交配体制下，其最佳交配频次的变化是如何因外界环境和自身状况的不同而变化的。这是理解松褐天牛多次交配体制进化的基础。

## 参考文献:

- Arnqvist G, Nilsson T. 2000. The evolution of polyandry: Multiple mating and female fitness in insects [J]. *Anim Behav*, **60**: 145–164.
- Eberhard WG. 1996. Female Control: Sexual Selection by Cryptic Female Choice [M]. Princeton, New Jersey: Princeton University Press, 98–100.
- Lauer MJ. 1996. Effect of sperm depletion and starvation on female mating behavior in the water strider, *Aquarius remigis* [J]. *Behav Ecol Sociobiol*, **38**: 89–96.
- Liu XM, Li M, Wei FW. 2002. Mechanism and the evolution of female multiple mating behavior [J]. *Acta Theriol Sin*, **22**(2): 136–143. [刘小明, 李明, 魏辅文. 2002. 雌性动物多次交配的机制及进化. 兽类学报, **22**(2): 136–143.]
- Lopez-Leon MD, Cabrero J, Pardo MC, Viseras E, Camacho JP. 1993. Paternity displacement in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans* [J]. *Heredity*, **71**(5): 539–545.
- Pitnick S, Spicer GS, Markow T. 1997. Phylogenetic examination of female incorporation of ejaculate in drosophila [J]. *Evolution*, **51**: 833–845.
- Rooney J, Lewis SM. 1999. Differential allocation of male-driven nutrients in two lampyrid beetles with contrasting life-history characteristics [J]. *Behav Ecol*, **10**: 97–104.
- Sakubai T. 1998. Variation in time to sperm depletion and oviposition pattern in female of *Riptortus clavatus* (Heteroptera: Alydidae) [J]. *Ann Entomol Soc Am*, **91**: 737–740.
- Thornhill R, Alcock J. 1983. The Evolution of Insect Mating Systems [M]. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press, 60–84.
- Trebbitt S, Fowler K, Partridge L. 1988. An effect of egg-deposition on the subsequent fertility and remating frequency of female *Drosophila melanogaster* [J]. *J Insect Physiol*, **34**: 821–828.
- Wang LP. 2004. Study on the biological characteristic of *Monochamus alternatus* Hope [J]. *J Fujian For Sci Tech*, **31**(3): 23–26. [王玲萍. 2004. 松墨天牛生物学特性的研究. 福建林业科技, **31**(3): 23–26.]
- Wang XP, Fang YL, Zhang ZN. 2005. Effect of male and female multiple mating on the fecundity, fertility, and longevity of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L) [J]. *J Appl Entomol*, **129**: 39–42.
- Xu FY, Xi K, Yang BJ. 1994. Studies on the emergence, replenishing feeding methods of adults of *Monochamus alternatus* in the Area of Nanjing its control [J]. *For Res*, **7**(2): 215–219. [徐福元, 席容, 杨宝君. 1994. 南京地区松褐天牛成虫发生、补充营养和防治. 林业科学研究, **7**(2): 215–219.]
- Zhang SY, Lu G. 2001. The mating and oviposition behavior, egg stage and hatchability of *Monochamus alternatus* [J]. *For Pest Dis*, **1**: 34–36. [张世渊, 陆高. 2001. 松褐天牛交尾产卵行为和卵期孵化率的测定. 森林病虫害通讯, **1**: 34–36.]

## 本刊副主编吴仲义院士简介

吴仲义 (Chung-I Wu), 男, 1954 年生。1976 年毕业于台湾东海大学生物系, 获学士学位; 1982 年毕业于加拿大英属哥伦比亚大学遗传学专业, 获博士学位; 1982—1984 年为德州大学休斯顿分校群体遗传学研究中心资深研究人员; 1985—1986 年为威斯康辛大学麦迪逊分校遗传实验室 NIH 博士后研究人员; 1986—1991 年任罗彻斯特大学生物系助理教授、副教授; 1991—1998 年任芝加哥大学生态学与进化系副教授; 1998 年至今任芝加哥大学生态学与进化系教授、系主任 (该系几十年来均是全美排名第一的进化生物学研究和教学中心)。2004 年 7 月当选台湾中央研究院第 25 届院士。

吴仲义教授是中国科学院“海外评审专家”, 任中国科学院昆明动物研究所、复旦大学等国内知名机构的客座教授; 兼任中国科学院昆明国际进化生物学与生物多样性研究中心主任。

吴仲义教授的专长为分子进化和群体遗传学, 在物种形成的遗传学机制研究方面成就非凡。提出了一套生殖隔离的遗传机制假说, 认为性选择在物种形成中扮演着重大角色; 找到了第一个“物种形成”的基因, 对物种的生物学概念做出了重要的补充和修正, 提出了物种形成的基因概念 (the genic concept of speciation), 在当今世界进化遗传学界、乃至遗传学界均具有广泛而深远的影响。