

大劣按蚊雄蚊的交配能力和日龄及交配次数对其生殖系统形态学影响的观察*

黄复生 况明书 刘连珠

(第三军医大学寄生虫学教研室, 重庆)

摘要 本文在实验室条件下, 观察大劣按蚊 (*Anopheles dirus*) 雄蚊交配能力和日龄、交配及交配后间歇期对其生殖系统形态学的影响。羽化后1小时可见丝状精子, 22小时尾器全部旋转180°。3—12日龄雄蚊交配能力最强。随着日龄增加, 精囊数逐渐减少, 睾丸内成熟精子占据整个睾丸的比例逐渐增加, 附腺透明区宽度变窄直至消失。多次交配比一次交配后, 其睾丸内精子量减少、透明区宽度增加明显; 交配后经过一定间歇期后, 生殖系统能重新恢复活力, 但多次交配后其恢复强度和速度远比交配一次者为慢。大劣按蚊雄蚊生殖系统的变化可初步判断其日龄和交配史。

关键词 大劣按蚊 雄蚊生殖系统 日龄交配

大劣按蚊 (*Anopheles dirus*) 是野栖蚊种, 常规滞留喷洒效果不太理想, 生物学控制包括遗传控制是媒介控制研究的一个重要途径, 大多数遗传控制法采用释放雄性不育或遗传基因改变的雄蚊使其后代种群减少。然而在自然界, 对其种群生态、雄蚊交配习性了解甚少, 而雄蚊种群的日龄分布、交配能力对在自然界评价竞争结果和控制研究是极其重要的。本文研究的目的是定量描述与日龄和交配史有关的雄蚊生殖系统形态学及不同日龄的交配能力, 为大劣按蚊在自然界的遗传和控制研究提供有用资料。

材料与方法

大劣按蚊为我室建立的自然交配繁殖种群, 每晚用光照度为16 Lux的蓝光诱导交配, 饲养条件同前(刘连珠等, 1986)。

雄蚊日龄与交配史观察方法 将1小时内羽化的雄蚊单独置笼, 每隔一定时间解剖10只以上, 观察其尾器旋转程度, 睾丸内形态上成熟精子产生的时间等。参照 Mahmood 与 Reisen (1982) 的方法, 将解剖后生殖系统各部分置于生理盐水中, 进行观察、测量: (1) 睾丸的最大长度和宽度; (2) 总精囊数; (3) 睾丸后端所含精子(简称存精处)占据睾丸的比例; (4) 附腺的最大长度和宽度; (5) 附腺的饱满程度; (6) 射精管的长度和宽度。雄蚊日龄分别为0、2、3、5、6、7、10、12、15、17、20、25、30, 各解剖、测量25只。为了观察日龄和交配对生殖系统的影响, 在1—2、3—5、5—7、10—12、15—17、20—22日龄的雄蚊各一只与10只雌蚊(3—5日龄)同笼48小时后分别进行解剖、测量, 各日龄组雄蚊实测

本文于1987年4月收到。

* 王兴桓教授、冯崇英副教授对本文提出宝贵意见, 刘丽娟同志参加部分工作, 谨此致谢。

数目40只以上,其中3—5日龄雄蚊150只以上(见表1)。为了定量观察交配后生殖系统恢复的程度和速度,将3日龄雄蚊1只与10只雌蚊(3—5日龄)同笼交配后12、36、60、84小时分别解剖、测量,观察交配一、二、三次的雄蚊分别为51、17、8只,实测数见表5。以上每笼内雌蚊受精囊受精数即为雄蚊的交配次数。

表1 单个和群体大劣按蚊雄蚊交配情况观察

雄蚊 日龄(天)	单个雄蚊交配*							群体雄蚊交配**	
	雄蚊数	受精雌蚊数					交配雄蚊比例	每个雄蚊 与雌蚊交 配比例	每个雄蚊与雌 蚊交配比例
		0	1	2	3	4			
1—2	47	29	7	7	4	—	0.383	0.702	0.464
3—5	153	76	51	17	8	1	0.503	0.739	0.636
5—7	46	28	12	4	2	—	0.391	0.565	0.571
10—12	47	27	13	5	1	1	0.425	0.638	0.619
15—17	47	34	7	6	—	—	0.277	0.404	0.412
20—22	40	35	3	1	—	1	0.125	0.225	0.278

* 单个未交配雄蚊与10只3—5日龄雌蚊同笼2个晚上后解剖观察。

** 25只未交配雄蚊与25只3—5日龄雌蚊同笼2个晚上后解剖观察,此结果为3批的平均数。

结 果

一、雄蚊羽化后24小时内生殖系统的变化

羽化后1小时内肠道内可见黑色胎粪,睾丸浅黄色,存精处含丝状精子,输精管内未见精子,附腺灰白色,内含较多颗粒样物质,尾器未旋转。6小时:睾丸颜色略深,少数雄蚊输精管近端可见精子,附腺浅灰色,半数左右尾器旋转90°左右。10小时:睾丸浅褐色,存精处精子排列清晰、整齐,渐向输精管远端移动,附腺颗粒变小且细,尾器旋转90°以上,个别已达180°。18小时:大部雄蚊尾器旋转完毕;22小时:尾器全部旋转180°,输精管远端至贮精囊处均可见到精子。在此期间,附腺颜色逐渐加深,灰白色至黑灰色,但透明区宽度变化不明显。

二、日龄对单个和群体大劣按蚊交配的影响

从表1看出,雄蚊交配能力最强是3—5日龄,有50.3%的雄蚊交配,10—12日龄其交配能力仍很强,达42.5%,15—17日龄后逐渐下降,在20—22日龄仍有12.5%的雄蚊有交配能力。不同日龄单个和群体交配经统计学分析后(除1—2日龄组), u 值均小于1.96,无显著性差异,说明在该实验条件下,单个或群体对其交配能力无明显影响。

三、日龄对未交配雄蚊生殖系统形态学影响

刚羽化时,睾丸长、宽度最小,25日龄宽度、30日龄长度最大,即老龄雄蚊睾丸长、宽度较大。所测左右两叶睾丸大小无明显差异($p > 0.05$)。精囊数在刚羽化(0日龄)最多,随着日龄增加而逐渐减少,存精处占据睾丸的长度的比例随日龄增加而逐渐增加($p < 0.05$),其内精子呈束状,形成弧形、环形或8字形等(图版I: 1、2、3)(表2)。

解剖镜下观察,小于1日龄雄蚊附腺呈淡褐色。附腺中央雄性附腺物质随日龄增加而逐渐增加,新羽化雄蚊在中央分泌细胞和腺壁之间有一透明区,其宽度平均为 29.22 ± 3.13

表 2 蚊龄对未交配大劣

	蚊 龄 (天)					
	0	2	3	5	6	7
辜 长度 (μm)	252b	270a	274a	277a	280a	278a
宽度 (μm)	106c	121ab	125ab	126ab	127ab	120ab
精囊数	3.8a	3.2b	2.9b	2.0c	1.7c	1.5c
丸 存精处(%)	34.2d	52.3c	56.0c	75.9b	78.9b	77.9b
附 长度 (μm)	279g	306def	314cde	340ab	328bcd	330abc
腺 宽度 (μm)	120c	130b	136ab	140a	140a	143a
射 长度 (μm)	245b	271a	275a	281a	282a	283a
精 管 宽度 (μm)	102c	119ab	118ab	119ab	122ab	129a

* 不同日龄雄蚊的辜丸、附腺各测量 50 个, 射精管测量 25 个。各均数经方差分析后, 同一排中的相同字母,

μm (图版 I: 4), 透明区环绕附腺周围, 随着日龄增加, 分泌物增加, 透明区宽度变窄。3 日龄后透明区主要局限于腺体前端或后端, 6 日龄后, 分泌细胞及其分泌的雄性附腺物质完全充满整个腺体(图版 I: 5), 刚羽化时附腺及射精管长、宽度最小, 5、25、30 日龄的附腺长、宽度较大。

四、交配对不同日龄雄蚊生殖系统的影响

观察结果表明: 1—2 日龄雄蚊辜丸长、宽度, 成熟精囊数及存精处占据辜丸的比例, 在已交配和未交配雄蚊间无明显差异 ($p > 0.05$), 交配后精囊数减少, 附腺长、宽度增加, 透明区宽度增加, 多次交配后, 透明区宽度明显增加(表 3)。

3—5、5—7、10—12、15—17、20—22 日龄雄蚊辜丸长、宽度、成熟精囊数、附腺长、宽度交配前后基本无明显变化。交配后特别是多次交配的雄蚊, 存精处占据辜丸的比例下降, 附腺透明区宽度增加明显, 这说明多次交配后排出较多的精子和附腺分泌物。多次交配后的辜丸略显皱缩, 还未恢复、充盈(图版 I: 6、7)。精囊数在交配后增加, 3—7 日龄明显增加, 说明此时其分化增殖能力较强。附腺分泌物的量是随日龄增加而逐渐增加的, 5—7 日龄附腺不透明程度最大, 表明此时分泌物完全充满附腺, 已交配附腺透明程度增加, 这

表 3 大劣按蚊雄蚊蚊龄与附腺透明区宽度的关系

蚊龄(天)	透明区宽度	(μm)*
0	29.22 $\pm$ 3.13	a
1	24.76 $\pm$ 2.56	b
2	18.48 $\pm$ 2.11	c
3	10.25 $\pm$ 2.78	d
4	5.14 $\pm$ 1.78	e
5	1.61 $\pm$ 1.24	f
6	0.00 $\pm$ 0.00	f

* 不同日龄各解剖、观察 50 个附腺, 经方差分析后, 均数 $\pm$ SD 后的相同字母无显著性差异 ($p > 0.05$), 不相同字母有显著性差异 ($p < 0.05$)。

按蚊雄蚊生殖系统的影响*

10	12	15	17	20	25	30
283a	279a	275a	273a	267ab	276a	285a
126ab	125ab	121ab	124ab	123ab	130a	127ab
1.0cd	0.8d	0.5d	0.3de	0.2e	0.2e	0.1e
79.3b	83.4b	89.3a	92.0a	95.9a	96.1a	96.4a
332abc	322bcd	322bcd	328bcd	325bcd	347ab	345ab
138ab	134b	133b	132b	133b	147a	134b
281a	270a	269a	276a	271a	283a	280a
118ab	119ab	118ab	116ab	119ab	126a	124a

$p>0.05$, 无显著性差异; 不同字母, $p<0.05$ 或 0.01 , 有显著性或非常显著性差异。

与其分泌物排出有关。附腺透明区宽度随交配次数增多而增加(图版 I: 8、9、10)。在交配次数相同的条件下, 一般蚊龄越长, 透明区宽度越小(表 4)。

表 4 交配对不同日龄大劣按蚊雄蚊生殖系统的影响*

	受精雌蚊数	雄蚊日龄(天)					
		1—2	3—5	5—7	10—12	15—17	20—22
精囊数	0	3.2(50)a	2.0(50)a	1.3(50)d	0.8(50)c	0.3(50)b	0.2(50)c
	1	2.6(9)b	2.3(20)a	1.5(31)c	1.4(18)ab	0.8(12)b	1.3(4)b
	2	2.5(11)b	2.3(6)a	2.1(8)b	1.8(16)a	1.3(12)a	1.0(2)b
	3	0.7(7)c	2.4(4)a	2.3(4)b	1.0(2)bc	—	—
	4	—	2.5(2)a	3.0(2)a	—	—	2.0(2)a
存精处(%)	0	56.0(50)a	75.9(50)a	77.9(50)a	83.4(50)a	93.1(50)a	94.0(50)a
	1	56.1(9)a	65.7(22)b	76.5(31)a	77.1(18)b	84.8(12)b	80.7(4)b
	2	55.0(11)a	53.5(6)cd	70.3(8)b	72.2(16)c	77.8(12)c	71.9(2)c
	3	52.5(7)a	55.9(4)c	64.2(4)c	60.0(2)d	—	—
	4	—	46.7(2)d	46.4(2)d	—	—	53.9(2)d
透明区宽度 (μm)	0	18.5(50)c	1.6(50)e	0.0(50)e	0.0(50)d	0.0(50)c	0.0(50)c
	1	19.8(10)c	10.4(28)d	8.6(34)d	10.1(22)c	5.0(12)b	0.0(4)c
	2	27.1(12)b	17.3(6)c	17.1(8)c	14.3(16)b	11.2(12)a	7.7(2)b
	3	32.2(8)a	24.6(4)b	19.7(4)b	24.1(2)a	—	—
	4	—	29.8(2)a	32.7(2)a	—	—	27.0(2)a

* 经方差分析后, 均数(括号内为所测生殖器官数)后相同字母无显著性差异 ($p>0.05$), 不同字母有显著性差异 ($p<0.05$)。

五、交配次数及其后间歇期对 3 日龄雄蚊生殖系统的作用

交配一次的雄蚊在交配后 36 小时, 存精处占据睾丸的比例恢复到正常水平。精囊数在交配后 12 小时有所增加。附腺透明区宽度在交配后 60 小时内, 交配和未交配有明显区别, 但 84 小时恢复正常。

交配二次的雄蚊在交配后 12 小时, 附腺透明区宽度明显增大, 存精处部分排空精子, 精囊数增加不明显。36 小时后存精处比例有所增加, 84 小时基本恢复正常, 但附腺透明

区宽度仍然明显存在 ($p < 0.05$)。

交配三次的雄蚊在交配后 12 小时, 存精处占据辜丸的比例明显下降, 透明区宽度明显增加 ($p < 0.05$); 84 小时, 存精处比例基本恢复到正常水平, 但附腺透明区仍有明显区别。交配二次、三次的成熟精囊数在 36 小时后有所增加。

表 5 交配及其后间歇期对 3 日龄大劣按蚊雄蚊生殖系统的影响*

	间歇期 (h)	受精雌蚊数			
		0	1	2	3
精囊数	12	1.9(50)w	2.3(20)w. a	2.3(6)w. a	2.4(4)w. a
	36	1.6(50)x	1.3(18)x. b	2.2(9)w. a	2.5(4) w. a
	60	1.3(50)w	1.2(18)w. b	2.0(6)w. a	2.0(4) w. ab
	84	1.5(50)w	1.4(12)w. b	1.7(6)w. a	1.5(4) w. b
存精处(%)	12	75.9(50)w	65.7(20)x. b	53.5(6)y. c	55.9(4) y. b
	36	78.9(50)w	79.5(18)w. a	68.1(9)wx b	58.1(4) x. b
	60	77.9(50)w	79.1(18)w. a	66.4(6)x. b	68.8(4) x. a
	84	78.6(50)w	80.1(12)w. a	76.2(6)w. a	71.4(4) wx. a
透明区宽度 (μm)	12	10.2(50)y	10.4(28)y. a	17.3(6)x. a	24.6(4)w. a
	36	5.1(50)x	7.0(20)y. b	15.0(10) x b	20.2(4) w. b
	60	1.6(50)y	1.9(18)y. c	9.5(6)x. c	11.9(4)w. c
	84	0.0(50)y	0.0(12)y. d	8.0(6)x. c	9.4(4) w. c

* 经方差分析后, 均数(括号内为所测生殖器官数目)后相同字母无显著性差异 ($p > 0.05$), 不同字母有显著性差异 ($p < 0.05$)。横排(交配次数, 以 wxyz 表示)和竖行(交配后间歇期, 以 abcd 表示)分别进行方差分析。

辜丸、附腺、射精管的长、宽度与交配无关 ($p > 0.05$)。以上可以看出, 交配二次以上的雄蚊, 在交配后 84 小时, 存精处的比例基本恢复正常, 但附腺透明区仍未充盈 (表 5)。

讨 论

大劣按蚊雄蚊羽化后 6 小时, 半数左右尾器旋转 90° , 10 小时少数尾器旋转 180° , 22 小时基本旋转完毕, 这与文献记载雄蚊在羽化后 24 小时内, 腹部从腹节 VIII 起作 180° 的扭转结果是一致的。羽化后 1 小时辜丸内可见丝状精子, 精囊逐渐发育, 形态上成熟的精子渐向远端移动, 精囊数随着日龄增加而逐渐减少, 这说明辜丸产生精子的能力越来越弱。

新羽化雄蚊附腺未被分泌细胞及其附腺分泌物所充满, 有一透明区, 随着日龄增加而逐渐充满, 5—7 日龄时的附腺不透明度最大。斯氏按蚊附腺前、后部各有不同颜色 (Mahmood 与 Reisen, 1982), 部分库蚊、伊蚊也有此现象。前部与已受精雌蚊拒绝再次交配有关, 而后部粘蛋白分泌物起粘着前分泌颗粒的作用 (Ramalingam 与 Craig, 1976), 但大劣按蚊前、后部颜色区别不显著。

大劣按蚊羽化后 48 小时内无交配行为发生 (刘连珠等, 1986), 本实验观察表明: 1—2 日龄雄蚊有 38.3% 交配, 因雌、雄蚊同笼 2 天后解剖, 实际为 3—4 日龄, 其交配可能在羽化后 2 天进行的。3—12 日龄雄蚊交配能力均较强, 20—22 日龄明显下降, 在不同日龄

组中,多次交配现象在12日龄前均较高。在20—22日龄组仍有一只雄蚊与4只雌蚊交配,这说明部分存活老龄雄蚊仍可保持较强的交配能力。斯氏按蚊、库态按蚊等交配能力最强是3—7日龄(Mahmood 和 Reisen, 1982)。蚊龄越长,即使附腺充盈,但交配能力也越来越弱直至丧失,精原细胞的耗尽可能与交配能力降低有关。老龄埃及伊蚊雄蚊不仅每个精囊内精子数量减少,而且精原细胞、精囊形态学提示有退行性改变(Hausermann 和 Nijhout, 1975; Wandall, 1986)。

日龄对生殖系统影响观察表明:随着日龄增加,精囊数逐渐减少,存精处比例逐渐增加,附腺透明区的宽度逐渐变窄直至消失。交配的影响表现为:交配一次后,在12日龄前,存精处的比例变化不明显,但透明区宽度增加,多次交配后其主要变化为睾丸、输精管、贮精囊内的精子、附腺分泌物的排空,这与斯氏按蚊的观察结果是一致的(Mahmood 和 Reisen, 1982),雄蚊多次交配一般是间断进行即经过一定的间歇期,这与多次交配后生殖系统恢复速度是相一致的,特别是交配3次以上的雄蚊,由于恢复需要时间,这就限制了较强生殖能力的雄蚊更多地将精子输给其它雌蚊。Reisen 等(1981)在自然界仅捕获很少量已交配库态按蚊,这在种群遗传学方面是有意义的,说明由于温度、湿度、环境等多种因素的影响,自然界多次交配的雄蚊数量是不多的。

大劣按蚊雄蚊生殖系统的变化主要是存精处的比例、附腺透明区的宽度、精囊数等,据此可大致判断其日龄和交配史,一般来说,多次交配与未交配或交配一次的较易辨别。根据本实验的观察资料和数据,可检查释放标记和本地雄蚊的日龄和交配史,以估计在自然界中该种绝育雄蚊的交配竞争能力,对大劣按蚊的遗传防制是很有意义的。

参 考 文 献

- 刘连珠等 1986 大劣按蚊在实验条件下交配均匀性的观察。动物学研究 7(1): 27—32
- Hausermann, W and H. F. Nijhout 1975 Permanent loss male fecundity following sperm depletion in *Aedes aegypti* (L.) *J. Med Entomol* 11: 707—15.
- Mahmood, F & W. K. Reisen 1982 *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae): changes in male mating competence and reproductive system morphology associated with aging and mating. *J. Med Entomol* 19: 573—88.
- Ramalingam, S & G. B. Craig, Jr. 1976 Functions of the male accessory gland secretions of *Aedes* mosquitoes (Diptera: Culicidae): transplantation studies. *Can. Entomol* 108: 955—60.
- Reisen, W. K et al 1981 *Anopheles culicifacies* Giles: mating behavior and competitiveness in nature of chemosterilized males carry a genetic sexing system. *Ann. Entomol Soc Am* 74: 395—401.
- Wandall, A 1986 Ultrastructure organization of spermatocytes in the testes of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J. Med Entomol* 23: 374—9.

OBSERVATIONS OF THE MALE MATING ACTIVITY AND THE EFFECT OF AGE AND MATING ON THE MORPHOLOGY OF THE MALE REPRODUCTIVE SYSTEM OF *ANOPHELES DIRUS*

HUANG FU-SHENG KUANG MING-SHU LIU LIAN-ZHU

(Department of Parasitology, Third Military Medical College, Chongqing)

Laboratory observations of the effect of age on the morphology of the male reproductive system of *Anopheles dirus* indicated that sperms present in the testes within 1 hour after emergence and some male genitalia rotated 180° 10 hour and all the male genitalia rotated completely 22 hour after emergence. Dissection of males with known age indicated that the number of spermatocysts decreased, the proportion of the testes occupied by the sperm reservoir increased and the width of clear area in the accessory gland decreased with age. At $25-27^\circ\text{C}$ maximum male mating activity occurred between 3 and 12 days of age. The effect of mating and subsequent resting periods on the male reproductive system of mating with 3 days of age was studied. The results indicated that the proportion of testes occupied by the sperm reservoir decreased and the width of clear area in the accessory gland increased with multiple matings and the male reproductive system was capable of rejuvenation after mating. The degree of recovery rate of the reproductive system after multiple mating took longer than that after mating once. Morphological Changes of male reproductive system were useful for the determination of age and mating history of male *An. dirus*.

Key words *Anopheles dirus*—male reproductive system;—age copulation



1. 刚羽化雄蚊睾丸, 精囊5个, 存精处占据睾丸比例较小 2. 4日龄雄蚊睾丸, 存精处比例增加, 其内精子成束状 3. 14日龄雄蚊睾丸, 存精处成环形的精子清晰可见 4. 刚羽化雄蚊附腺, 中央分泌细胞和腺壁之间有透明的透明区 5. 10日龄附腺, 透明区消失 6. 3日龄雄蚊, 交配1次的睾丸 7. 3日龄雄蚊, 交配4次的睾丸, 仅边缘可见丝状精子, 外缘略显皱缩 8. 7日龄, 交配1次的雄蚊附腺, 透明区较窄 9. 15日龄, 交配2次的雄蚊附腺 10. 3日龄, 交配4次的雄蚊附腺, 透明度及透明区宽度增加, 略显皱缩 (图1—7, $\times 800$; 图8—10, $\times 400$)