

程明阳, 束潇潇, 张勘, 朱玉东, 龚宇舟, 肖璐瑶, 舒国成, 谢锋. 小个体大凉蟾增加精子质量投入获得交配后竞争优势[J]. 应用与环境生物学报, 2021, 27 (4): 831-836

Cheng MY, Shu XX, Zhang K, Zhu YD, Gong YZ, Xiao LY, Shu GC, Xie F. The smaller Taliang crocodile newt (*Liangshantriton taliangensis*) invests more in sperm quality to gain advantage in post-copulatory sperm competition [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2021, 27 (4): 831-836

小个体大凉蟾增加精子质量投入 获得交配后竞争优势

程明阳^{1,2} 束潇潇^{1,2} 张勘³ 朱玉东³ 龚宇舟^{1,2} 肖璐瑶^{1,2} 舒国成⁴ 谢锋^{1,2}

¹中国科学院成都生物研究所, 中国科学院山地生态恢复与生物资源利用重点实验室, 生态保育与生物多样性保护四川重点实验室 成都 610041

²中国科学院大学 北京 100049

³栗子坪国家级自然保护区 雅安 625400

⁴宜宾学院 宜宾 644000

摘要 精子竞争进化稳定策略中“角色模型”预测在交配前竞争中处于不同“角色”地位的雄性在精子竞争中存在不同的精子投资策略, 而“稀释假说”提出了在不同空间尺度上对精子投资具有数量或质量的偏向。大多数有尾类两栖动物因体内受精、精子储存和多次交配等特点成为验证上述模型假说的最佳类群。基于雄性大凉蟾 (*Liangshantriton taliangensis*) 交配前竞争的研究, 运用全子集回归分析, 探究精子数量和质量的相关特征与身体特征、身体状况之间的关系以及大凉蟾交配后精子竞争情况。结果显示头体长 (snout-vent length, SVL) 更长的雄性倾向于拥有更大的睾丸质量 (testis mass, TM) 和体积 (testis volume, TV), 但这种关系并不显著 ($P_{TM-SVL} = 0.095$; $P_{TV-SVL} = 0.058$); 精子全长 (相关系数 $CC = -0.939$, $P < 0.001$) 和尾长 ($CC = -0.865$, $P < 0.001$) 与雄性头体长存在显著负相关关系, 而与雄性比例质量指数 (精子全长: $CC = 1.322$, $P < 0.001$; 精子尾长: $CC = 1.745$, $P < 0.001$) 存在显著正相关关系。该结果说明处于交配前竞争劣势的小个体大凉蟾采取补偿策略, 产生更大、尾部更长的精子从而增加其在交配后精子竞争中的优势, 无论是劣势个体还是身体状况更好的个体, 均表现出对增加精子质量的投入偏向, 而没有选择增加精子数量。本研究在有尾两栖类中验证了精子竞争的“角色”模型, 同时发现在大凉蟾的交配系统中对精子质量表现出了相对于精子数量更强的选择性, 此发现支持在具有储精腺体结构的小空间交配系统中, 精子置换可能在精子竞争中起到更为关键作用的假说。(图2 表2 参50)

关键词 精子竞争; 睾丸大小; 精子表型; 大凉蟾; 有尾类; 两栖动物

The smaller Taliang crocodile newt (*Liangshantriton taliangensis*) invests more in sperm quality to gain advantage in post-copulatory sperm competition

CHENG Mingyang^{1,2}, SHU Xiaoxiao^{1,2}, ZHANG Kan³, ZHU Yudong³, GONG Yuzhou^{1,2}, XIAO Luyao^{1,2}, SHU Guocheng⁴ & XIE Feng^{1,2}

¹ CAS Key Laboratory of Mountain Ecological Restoration and Bioresource Utilization & Ecological Restoration Biodiversity Conservation Key Laboratory of Sichuan Province, Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China

² University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

³ Liziping National Nature Reserve, Ya'an 625400, China

⁴ Yibin University, Yibin 644000, China

Abstract According to evolutionary stable strategy (ESS) theory, the “roles model” in sperm competition predicts that males who occupy different roles during pre-copulatory competition, will adopt different sperm investment strategies during post-copulatory competition. The “sperm dilution” hypothesis suggests that males may invest differently in terms of sperm number or sperm size on different spatial scales. Owing to physiological and behavioral characteristics including internal fertilization, sperm storage, and multiple matings, most urodeles are considered ideal animal models for testing the aforementioned hypotheses. Based on previous research into pre-copulatory competition in male Taliang crocodile newts (*Liangshantriton taliangensis*), this study aimed to explore post-copulatory competition among *L. taliangensis* males. Using all-subset regression (ASR) analysis, we tested for relationships between sperm number (testis mass and volume) and size (total sperm length and

收稿日期 Received: 2021-03-18 接受日期 Accepted: 2021-04-13

国家重点研发计划重点专项 (2017YFC0505202)、四川省科技重大专项 (2018SZDZX0036)、生态环境部生物多样性保护专项 (2111101) 和栗子坪国家级自然保护区物种保护项目 (2019) 资助 Supported by the National Key R&D Program of China (2017YFC0505202), the Sichuan Science and Technology Major Project (2018SZDZX0036), the Ministry of Ecology and Environment Biological Diversity Protection Major Project (2111101), and the Species Protection Project of the Liziping National Nature Reserve (2019)

✉ 通讯作者 Corresponding author (E-mail: shuxx@cib.ac.cn; xiefeng@cib.ac.cn)

sperm tail length) and body features (snout-vent length, relative tail length, and relative tail height) and body condition (scaled mass index). Larger males tended to have larger testis mass and testis volume, but the relationship was not found to be statistically significant ($P_{\text{TM-SVL}} = 0.095$; $P_{\text{TV-SVL}} = 0.058$). A significantly negative correlation was found between sperm size (total sperm length and sperm tail length) and snout-vent length (sperm total length to SVL: coefficient = - 0.939, $P < 0.001$; sperm tail length to SVL: coefficient = - 0.865, $P < 0.001$). The scaled mass index of males showed a significant positive correlation with sperm size (sperm total length: coefficient = 1.322, $P < 0.001$; sperm tail length: coefficient = 1.745, $P < 0.001$). This finding indicates that male *L. taliangensis* with smaller body size experience a pre-copulatory disadvantage, but have adopted compensatory tactics by producing larger-sized, longer-tailed sperm to maximize fertilization success. In addition, both disadvantaged males and males with good body conditions showed a tendency to invest more in sperm quality than in sperm number. These results offer the first evidence for the “roles model” during sperm competition in Caudata. Furthermore, they reveal that in these kinds of mating systems, which possess special sperm storage structures, sperm displacement may play a critical role in sperm competition.

Keywords sperm competition; testis size; sperm phenotype; *Liangshantriton taliangensis*; Caudata; amphibian

性选择包括交配前的选择和交配后的选择。精子竞争是在交配后进行的雄性间竞争,其定义为来自两个或更多雄性的精子为使一组卵受精而进行的竞争,驱动力是受精而非交配^[1-2]。精子竞争作为一种进化选择压力,塑造了雄性精子相关性状和繁殖策略的差异^[3-4]。基于进化稳定策略(evolutionarily stable strategy, ESS)^[5], Parker (1990)提出在交配前竞争中处于不同竞争地位的雄性“角色”具有不同的交配后精子竞争策略的“角色模型(roles model)”,预测处于劣势地位的雄性会增加对性腺的投资以弥补较差身体条件所造成的低交配成功率^[6]。Kustra与Alonzo (2020)总结了该模型及相关内容在脊椎动物中的研究情况,结果显示共有23项研究在鱼类、两栖类和哺乳类3个类群对该模型进行了一定程度的验证,但其中20项研究都是关于鱼类的^[7]。两栖动物中,在峨眉树蛙(*Zhangixalus omeimontis*)的研究中未检测出劣势雄性增加性腺投资的策略^[8]。而在体外受精的*Crinia georgiana*蛙中虽发现了小体质量个体的精子活力更高,但该研究仅运用体质量一项身体特征指标得出的结果可能无法准确反映雄性的交配前竞争地位^[9]。因此,该模型是否适用于两栖动物类群,尤其是在精子竞争研究领域备受关注的、大部分行体内受精的有尾类两栖动物中^[10],尚缺少直接证据。

增加对性腺的投资可以产生更大数量或更高质量的精子,进而直接提高其精子竞争优势和繁殖成功率^[11-13],但由于能量的限制,动物必须在增加精子数量或增加精子质量间进行权衡^[14-15]。对此, Paker等(2010)提出了精子竞争的“稀释假说”,该假说认为当竞争精子被稀释于较大空间时符合精子竞争的“抽奖模型(affle model)”,即数量更多的精子使卵受精的成功率更高,拥有竞争优势;而当竞争精子被限制在小空间时符合精子竞争的“置换模型(displacement model)”,此时高密度的精子间发生活跃的相互作用,动物增加单个精子的质量更能通过置换作用提高受精成功率^[15]。该假说在种间的比较分析中得到了支持^[16-19],但在雀形目鸟类*Agelaius phoeniceus*的种内比较研究中却得出与该假说相矛盾的结果^[20],这暗示还需更多证据对其进行验证,特别是种内比较数据。在两栖动物种,精子竞争强度已被证明显著影响雄性精子数量和质量的相关性状^[21-23],但这些数据主要基于大空间体外受精的无尾类种间比较得出,当前仍缺乏种内及小空间尺度的体内受精情况下对精子数量和质量权衡问题的深入了解。

大凉蟾(*Liangshantriton taliangensis*)隶属于蝾螈科(Salamandridae)凉蟾属(*Liangshantriton*),是我国特有的狭域分布种^[24]。其繁殖活动于每年4月下旬到7月下旬进行,繁殖期大量个体聚集在繁殖场,雌雄性二型差异和显著偏雄的性比预示了其较大的性选择压力^[25]。大凉蟾的交配前竞争研究结果指出,个体更大、身体状况更好和运动能力更强(以尾鳍高度衡量)的雄性拥有更高的抱对成功率,是竞争中的优势个体;而身体条件较差的劣势个体采取了规避竞争、干扰求偶或“窃取者(sneaker)”的策略以争取自身交配繁殖机会^[25-26]。大凉蟾雌性在一个繁殖季内连续接受来自多个雄性精子的行为也为精子竞争的发生提供了必要条件^[26]。那么,交配前竞争中的优势个体在交配后竞争中还能继续保持这种优势吗?是否那些本处于劣势的个体存在补偿生殖策略并增加了对性腺的投资获得了交配后竞争中的优势?为回答这些问题,本研究以大凉蟾现有交配前竞争行为为基础,深入探究其交配后选择机制,检测其雄性是否存在可变的繁殖策略。

为探究在大凉蟾中精子竞争对精子特征选择的偏向性,并对相关模型作出补充,本研究还希望检测其投资策略在增加精子数量还是精子质量间的权衡问题,这要求对其精子数量和质量的相关特征进行测量。对于精子数量,由于目前缺少对有尾类精英内精子进行直接计数的方法^[27],而睾丸大小是射精性状重要体现指标,在不能对精子进行直接计数时睾丸大小可被用以衡量近似精子数量^[28-29],因此本研究拟利用睾丸的质量和体积两项指标以体现雄性睾丸大小,进而反映精子近似数量并探讨竞争对其投入的影响。对于精子质量,考虑到从蝾螈科的精英中收集的精子可能是没有运动能力的^[30-31],无法测量其精子的运动速度和寿命等质量特征,因此本研究拟测量精子长度表型指标以反映其质量,因为更大(通常以长度衡量)或尾部更长的精子在寿命、游动速度、置换能力等方面具有优势^[4]。睾丸大小和精子表型分别作为本研究中大凉蟾精子数量和质量的表现指标,并且可能受到精子竞争的选择。

本研究基于Paker于1990年提出的“角色模型”^[6],预测在交配前竞争中处于劣势的大凉蟾个体在生殖腺上拥有更高的投资,并通过增加精子的数量或质量保证其精子在交配后竞争中的优势,且受体内受精的空间性影响^[15],其投入权衡存在对精子数量或精子质量的偏向性。为验证模型和假说的预测,本研究根据大凉蟾交配前竞争中优劣势的影响因素^[25],筛选包括身体形态和身体状况在内的重要身体特征指标,检测

其与睾丸大小和精子表型间的关系。考虑到大凉蟾为受保护的珍稀物种^[24], 本研究不解剖活体动物, 而选择解剖大凉蟾馆藏历史标本测量其睾丸质量和体积以体现其睾丸大小; 而精子表型测量则采用无损伤采样的方法收集大凉蟾交配过程中自然排出的精英, 并将其制成涂片后染色测量。在所有数据收集完毕后通过检测其身体特征指标和精子数量、质量衡量指标之间的关系, 最终依结果判断是否处于交配前竞争劣势的雄性在精子数量或精子质量上增加了补偿性投资, 同时检测该投资策略的偏向性, 以期“稀释假说”提供新的证据。本研究旨在为精子竞争研究体系的相关模型假说补充两栖动物中的科学证据, 为将来进一步总结各类群间的规律和异同提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 雄性身体特征与睾丸大小关系的数据收集

数据收集自中国科学院成都生物研究所标本馆中1998年7月10日于四川省石棉县采集并保存于10%福尔马林溶液中的大凉蟾历史标本。挑选20尾形态完整且体型差异大的雄性标本, 利用游标卡尺测量所有个体的头体长 (snout-vent length, SVL)、尾长 (tail length, TL)、尾高 (tail height, TH), 利用电子天平称量体质量 (body mass, m) (长度精确到0.01 mm, 质量精确到0.1 g)。之后依Stanton (2013) 描述的方法^[32]剖取两侧睾丸, 利用吸水纸吸干睾丸表面的液体后用分析天平分别称量两侧睾丸的质量 (精确到0.1 mg); 所有睾丸在称重后被立即测量体积, 因为大凉蟾睾丸分叶且形状不规则, 因此将睾丸浸没在装有固定体积蒸馏水的离心管中, 利用移液器分别量取每个睾丸排开水的体积作为该睾丸的体积 (精确到5 μ L)。

1.2 雄性身体特征与精子表型关系的数据收集

用于采集精子样本的个体于2019年5-7月期间采集自四川省石棉县栗子坪国家级自然保护区公益海保护站 (29.020474°N, 102.392983°E)。在抄网捕获的大凉蟾繁殖个体中, 挑选出体型差异大的雄性个体12只。挑出的个体在测量身体特征数据后 (方法同上), 被投入配有1尾雌性的, 长 $\times$ 宽 $\times$ 高=42 cm $\times$ 30 cm $\times$ 23 cm, 水深10 cm的方形白色不透明塑料水盆中, 盆底铺设粗糙的石板方便其求偶, 实验中可观察到受试雄性求偶并排精。约24 h后, 雄性排出精英附着于盆底或漂浮于水中, 此时取出配对动物, 利用纱网滤出精英, 受试个体均在实验结束后立即放回繁殖场。将收集到的精英剪碎并涂于载玻片上, 精子涂片在干燥后以2%的甲醇进行固定, 再经0.25%苯胺蓝染色液染色, 最后利用蒸馏水冲洗残余染色液, 待其再次干燥后测量精子表型。

利用Nikon E200光学显微镜检查精子涂片样品, 在每一尾受试雄性的精子中挑选20条形态清晰且完整的精子, 在400 $\times$ 放大倍数下拍摄。随后将得到的图像导入Image J version 1.52 (NIH, Bethesda, MD) 中测量每条精子的表型。更大的精子在精子竞争的“稀释假说”中被认为是更具优势^[15], 精子尾长通常被认为与其运动能力有正相关关系^[22], 因此测量了每条精子的全长 (total sperm length, TSL) 和尾长 (sperm tail length, STL) 两项精子表型指标以衡量精子质量。为减少系统误差, 所有测量均由一人完成。

1.3 数据处理与分析

考虑到两栖动物的左右睾丸大小可能具有不对称性的特点^[33-35], 先进行左右睾丸数据的正态性检验, 符合后, 利用

t -test检验了大凉蟾左右睾丸质量和体积的差异, 结果显示大凉蟾左、右睾丸质量 ($t = 0.48$, $P = 0.64$) 和体积 ($t = 0.24$, $P = 0.82$) 均不存在显著差异, 故在后续分析中合并左右睾丸的质量 (testis mass, TM) 和体积 (testis volume, TV) 进行统计分析。

对于测量得到的雄性个体或标本的身体特征数据, 首先结合实际记录的身体残缺情况 (例如个体是否断尾) 进行异常值剔除, 随后在PAST 2. 11软件^[36]中利用Allometric vs. standard方法对各形态特征进行异速增长校正^[37-38], 利用比例质量指数 (scaled mass index, SMI) 代表身体状况^[39]; 头体长 (SVL)、相对尾长 (relative tail length, RTL) 和相对尾高 (relative tail height, RTH) 3项指标被用以衡量雄性优劣势。

使用全子集回归分析, 以睾丸大小和精子表型指标作为因变量, 雄性个体或标本的身体特征和身体状况指标作为变量分析二者的关系。首先进行方差膨胀因子的计算以排除严重共线性参数, 随后基于赤池信息量准则AICc (Akaike's information criterion corrected) 和Mallows CP统计量及参数显著性筛选最佳拟合模型^[40]。模型筛选时将 Δ AICc < 2的模型视作等效模型并排除 Δ AICc > 2的模型, 在等效模型中选择变量均显著 ($P < 0.05$) 或趋向显著 ($0.05 < P < 0.1$) 的模型为最优模型。最后根据筛选得到的最适回归模型计算雄性身体特征与精子数量和质量特征的最佳拟合模型参数。数据分析在R中使用“leaps”“car”“AICcmodavg”软件包完成。

2 结果

方差膨胀因子结果显示自变量之间不存在显著共线性 ($\sqrt{VIP} < 2$), 因此使用所有自变量进行全子集回归, 最终筛选得到精子数量和质量特征与雄性身体特征参数间的最适回归模型见表1。结果显示雄性的头体长对睾丸质量和体积产生了影响, 而雄性头体长和比例质量指数对精子全长和尾长产生了影响, 而雄性相对尾长和相对尾高没有表现出对睾丸大小或精子表型的影响 (涉及相对尾长和相对尾高的模型 Δ AICc均大于2)。

表1 大凉蟾睾丸大小和精子表型与个体大小与身体状况的最适回归模型
Table 1 Optimal regression model of body size and body condition of *Liangshantriton taliangensis* with testis size and sperm phenotype

因变量 Dependent	自由度 d_f	自变量1 Variable 1	自变量2 Variable 2	AICc	Δ AICc	R^2_{adj}
TM	20	SVL		-50.81	0	0.10
TV	20	SVL		-45.97	0.90	0.14
TSL	12	SVL	SMI	1618.01	0.32	0.35
STL	12	SVL	SMI	1601.94	0.35	0.40

TM: 睾丸质量; TV: 睾丸体积; TSL: 精子全长; STL: 精子尾长; SVL: 头体长; SMI: 比例质量指数。

TM: Testis mass; TV: Testis volume; TSL: Total sperm length; STL: Sperm tail length; SVL: Snout-vent length; SMI: Scaled mass index.

根据最适回归模型计算得到的精子数量和质量特征与雄性身体特征的最佳拟合模型参数见表2。结果显示, 头体长更长的雄性倾向于拥有更大的睾丸质量和体积, 但这种关系并不显著 ($P_{TM-SVL} = 0.095$; $P_{TV-SVL} = 0.058$); 而雄性头体长和比例质量指数均对精子表型产生了作用 (表2)。雄性头体长与精子全长和尾长均呈极显著负相关关系 (P 值均小于0.001, 表2, 图1)。雄性比例质量指数与精子全长和尾长呈极显著正相关关系 (P 值均小于0.001, 表2, 图2)。总体而言, 体型更小

和身体状况更好的雄性拥有质量更高的更大或尾更长的精子。

表2 大凉蟾睾丸大小和精子表型与个体大小和身体状况的最佳拟合模型参数
Table 2 Best fitting model parameters of body size and body condition of *Liangshantriton taliangensis* with testis size and sperm phenotype

因变量 Dependent Variable	变量 Variable	自由度 d_f	回归系数 Coefficient	标准误 SE	t值 t-value	P值 P-value
TM	SVL	20	0.005	0.003	1.761	0.095
TV	SVL	20	0.006	0.003	2.024	0.058
TSL	SVL	12	-0.939	0.156	-6.006	< 0.001***
	SMI	12	1.322	0.333	3.973	< 0.001***
STL	SVL	12	-0.865	0.151	-5.742	< 0.001***
	SMI	12	1.745	0.321	5.440	< 0.001***

*表示统计显著性: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. TM: 睾丸质量; TV: 睾丸体积; TSL: 精子全长; STL: 精子尾长; SVL: 头体长; SMI: 比例质量指数。

* Significance level: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$. TM: Testis mass; TV: Testis volume; TSL: Total sperm length; STL: Sperm tail length; SVL: Snout-vent length; SMI: Scaled mass index.

3 讨论与结论

Parker (1990) 基于进化稳定策略提出精子竞争雄性“角色模型”，预测竞争劣势的雄性会增加对性腺的投资以弥补其相对于优势雄性的低交配成功率^[6]。本研究结果显示头体长更小的雄性大凉蟾拥有更长的精子总长和尾长。头体长体现了大凉蟾体型大小并显著影响抱对成功率，头体长较小的雄性在交配前竞争中处于劣势^[25]，而更长的精子在交配后竞争中是具有优势的^[4]，更长的精子尾部通常也被认为能为精子带来更强的前进动力，从而使其能够更快地游动^[22]，因此，本文推测小体型大凉蟾通过对性腺的补偿性投入产生质量更高、更具竞争力的精子。该结果在体内受精的有尾两栖动物中支持了Parker提出的精子竞争“角色模型”^[6]。

头体长更大的雄性倾向于拥有更大的睾丸，但该结果并不显著。事实上，睾丸大小除可以近似反映精子数量外，还常

被用以反映某物种交配系统中的精子需求率、交配率和可能的精子限制^[41]，这说明睾丸大小这一指标对精子数量的反映效力不及精子大小对精子质量的反映效力。睾丸大小与身体状况不存在显著相关性的结果同样体现了能量投资在该特征在上的优先度不及精子质量相关指标。在大凉蟾的交配系统中，大体型雄性拥有更高的抱对成功率^[25]，相对于小体型个体，其与雌性交配的机会更多。因此大体型个体拥有更大睾丸的倾向还可解释为满足其更高的交配率而上升的精子需求率。但睾丸体积与头体长接近显著相关的检测结果 ($P = 0.058$) 可能与采样不足有一定关系。在未来的研究中进一步检测雄性身体状况、睾丸大小、可用精英数量、每精英中的精子数量以及在每次交配中精子使用策略之间的准确关系，以进一步解释其中的机制。

精子特征可能同时受到环境和遗传的影响，作为环境重要影响指标的动物身体状况对精子数量和质量的影响目前没有一个准确的评估^[42]。降低食物和营养会显著影响印度谷斑螟 (*Plodia interpunctella*) 的精子生成数量，但不会或仅低效影响精子质量^[43]，但在其他一些类群和物种中，食物和身体状况与精子特征之间没有明显的协同变化^[44-45]。Kahrl和Cox (2015) 在蜥蜴 (*Anolis sagrei*) 的研究中发现，自然条件下该蜥蜴雄性身体状况与精子中片长度呈显著的负相关，但不影响精子尾长，在实验条件下，精子数量也受到身体条件的影响^[46]。本文研究发现，身体状况与体现精子质量的精子总长和尾长具有极显著的正相关关系，但与睾丸大小和重量无关，说明个体的营养状况作为适合度的体现，对精子质量有显著影响；但不显著影响数量。这与其他物种的研究结果不一致，提示不同类群在精子竞争中分配策略的差异。

综合来看，在大凉蟾中无论是小体型的劣势雄性还是身体状况更好的雄性都没有选择将投资用于产生更大的精子数量（即睾丸大小），而是用于产生总长和尾长更长的高质量精子。事实上，精子竞争的“稀释假说”预测了精子竞争在大型脊椎动物中应偏向“抽奖模型”，即对精子数量进行更强的选

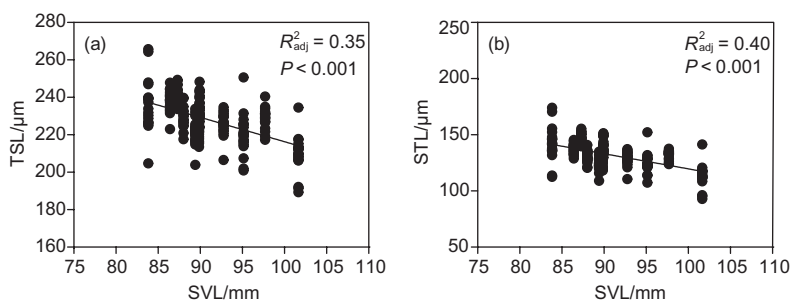


图1 大凉蟾头体长 (SVL) 与精子全长 (TSL) (a) 和精子尾长 (STL) (b) 的相关关系。

Fig. 1 Correlation between the snout-vent length (SVL) and total sperm length (TSL) (a) or sperm tail length (STL) (b) of *Liangshantriton taliangensis*.

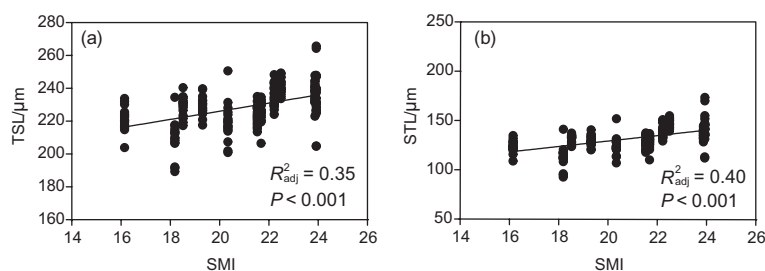


图2 大凉蟾比例质量指数 (SMI) 与精子全长 (TSL) (a) 和精子尾长 (STL) (b) 的相关关系。

Fig. 2 Correlation between the scaled mass index (SMI) and total sperm length (TSL) (a) or sperm tail length (STL) (b) of *Liangshantriton taliangensis*.

择, 置换模型则更适合体内受精的无脊椎动物^[15], 在鸟类和昆虫间的比较研究也支持了此结论^[16-17]。本研究检测出了大凉蜥繁殖系统对精子质量更强的选择性, 即更符合“置换模型”。因为大凉蜥属于蜥蜴科体内受精的物种, 雌性将精子储存于泄殖腔的腺体中, 当卵在通过泄殖腔时, 储精腺二次排精, 正式受精^[47]。有尾类储精腺的解剖研究中发现精子在该过程中被集中在储精腺这一狭小的空间中, 该尺度下, 精子的运动受到限制, 来自不同雄性个体的精子会发生混合和缠结^[48]。推测该情况下高密度的精子间产生活跃的相互作用, 更大和运动能力更强的精子容易置换掉其他竞争者的精子, 故增加单个精子的质量更能提高竞争成功率。结合大凉蜥的交配前竞争, 考虑到处于竞争劣势的大凉蜥与雌性接触的机会十分有限, 为保证自身精子在成功交配并进入雌性泄殖腔内后更具竞争力, 此时增加单个精子的竞争能力更可以提高繁殖成功率^[49]。综上, 大凉蜥在精子的投资上不同于其他脊椎动物的一般模式, 没有选择增加数量, 而是选择了增加质量的策略。雀形目鸟类 (*Agelaius phoeniceus*) 的种内比较研究展示了与本研究相似的结果^[20], 这提示对于精子竞争的稀释假说, 在小体型脊椎动物, 尤其是雌性具有储精结构的类群中需要更多的研究进行验证。

本文研究发现与大凉蜥交配前竞争相关的尾长和尾高两项指标并没有显示出与精子数量和质量特征的相关性, 尾长和尾高作为大凉蜥运动能力的体现指标, 受到了交配前竞争选择^[25], 但这种影响不在精子竞争选择中体现, 说明二者进化上的相对对立。

总结发现雄性大凉蜥个体间针对交配前竞争和交配后竞争具备可变的策略: 个体大、营养好、运动能力强(尾鳍较

高)的雄性占据交配前竞争优势, 拥有更高的抱对成功率^[25], 其策略着重于增加交配前竞争的投资以保证对配偶的控制和垄断。而交配前竞争中处于劣势的雄性, 行为上采取了较晚进入繁殖场的策略以规避高强度的繁殖竞争, 同时采用“窃取者”(sneaker)策略, 表现出丰富的干扰行为以提高自身的繁殖机会。同时, 劣势个体提高了对生殖腺的投入, 产生更高质量的精子, 使自身精子在雌性泄殖腔内竞争时具有更高胜率并最终实现自身繁殖成功率的提升, 符合精子竞争的“角色模型”。大凉蜥在精子数量和质量权衡中, 大个体雄性更多倾向于精子数量(统计不显著), 而小个体和营养状况良好的雄性更多倾向于精子质量, 其结果支持“稀释假说”提出的小空间下精子竞争的“置换模型”。

值得注意的是, 除了睾丸大小和精子表型外, 精子活力、寿命甚至雌性选择(female choice)都将对精子竞争结果即繁殖结果产生影响^[10, 48, 50], 大凉蜥精子竞争的实际过程可能更为复杂。考虑到有尾类其他精子特征的测定尚存在难度, 要解释雄性大凉蜥性选择的详细机制, 回答如交配前和交配后竞争二者中哪一部分对繁殖结果有最直接的影响及最终何种雄性拥有更高的繁殖成功率等问题, 在未来的研究中亟待利用更直接的方法判断参与竞争的个体中哪些获得了更多的后代, 引入微卫星分型等分子生态学手段将有助于进一步推断大凉蜥中雄性体征、精子特征与繁殖成功和后代个体适合度的关系。

致谢 感谢四川栗子坪国家级自然保护区公益海保护站对外工作给予后勤援助, 吴应豪帮助采集样品, 以及中国科学院动物研究所许双硕士提供精子表型测量建议。

参考文献 [References]

- Parker GA. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects [J]. *Biol Rev*, 1970, **45**: 525-567
- Parker GA. Sperm competition and the evolution of ejaculates: towards a theory base [M]//Birkhead TR, Møller AP. Sperm Competition and Sexual Selection. San Diego: Academic Press, 1998: 3-54
- Wedell N, Gage MJG, Parker GA. Sperm competition, male prudence and sperm-limited females [J]. *Trends Ecol Evol*, 2002, **17** (7): 313-320
- Pizzari T, Parker GA. Sperm competition and sperm phenotype [M]//Birkhead TR, Hosken D, Pitnick S. Sperm Biology: An Evolutionary Perspective. San Diego: Academic Press, 2009: 207-245
- Smith JM. Evolution and the Theory of Games [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1982
- Parker GA. Sperm competition games: raffles and roles [J]. *Proc Biol Sci*, 1990, **242**: 120-126
- Kustra MC, Alonzo SH. Sperm and alternative reproductive tactics: a review of existing theory and empirical data [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2020, **375** (1813): 20200075
- Liao WB, Mi ZP, Li CL, Wei SC, Wu H. Sperm traits in relation to male amplexus position in the Omei treefrog *Rhacophorus omeimontis*, a species with group spawning [J]. *Herpetol J*, 2013, **23** (1): 17-21
- Dziminski MA, Roberts JD, Simmons LW. Sperm morphology, motility and fertilization capacity in the myobatrachid frog *Crinia georgiana* [J]. *Reprod Fertil Dev*, 2010, **22** (3): 516-522
- Halliday T. Sperm competition in amphibians [M]//Møller AP. Sperm Competition and Sexual Selection. San Diego: Academic Press, 1998: 465-502
- Birkhead TR, Fletcher F. Male phenotype and ejaculate quality in the zebra finch [J]. *Proc Biol Sci*, 1995, **262**(1635): 329-334
- Stockley P, Gage MJG, Parker G, Møller AP. Female reproductive biology and the coevolution of ejaculate characteristics in fish [J]. *Proc Roy Soc Lond B Biol Sci*, 1996, **263** (1369): 451-458
- Levitan DR. Sperm velocity and longevity trade off each other and influence fertilization in the sea urchin *Lytechinus variegatus* [J]. *Proc Biol Sci*, 2000, **267** (1443): 531-534
- Parker GA. Sperm competition games: sperm size and sperm number under adult control [J]. *Proc Biol Sci*, 1993, **253** (1338): 245-254
- Parker GA, Immler S, Pitnick S, Birkhead TR. Sperm competition games: sperm size (mass) and number under raffle and displacement, and the evolution of P2 [J]. *J Theor Biol*, 2010, **264** (3): 1003-1023
- Immler S, Pitnick S, Parker GA, Durrant KL, Lüpold S, Calhim S, Birkhead TR. Resolving variation in the reproductive tradeoff

- between sperm size and number [J]. *PNAS*, 2011, **108** (13): 5325-5330
- 17 Lüpold S, Pitnick S, Berben KS, Blengini CS, Belote JM, Manier MK. Female mediation of competitive fertilization success in *Drosophila melanogaster* [J]. *PNAS*, 2013, **110** (26): 10693-10698
 - 18 Lüpold S, Fitzpatrick JL. Sperm number trumps sperm size in mammalian ejaculate evolution [J]. *Proc Biol Sci*, 2015, **282** (1819): 20152122
 - 19 Liao WB, Huang Y, Zeng Y, Zhong MJ, Luo Y, Lüpold S. Ejaculate evolution in external fertilizers: influenced by sperm competition or sperm limitation? [J]. *Evolution*, 2018, **72** (1): 4-17
 - 20 Lüpold S, Westneat DF, Birkhead TR. Geographical variation in sperm morphology in the red-winged blackbird (*Agelaius phoeniceus*) [J]. *Evol Ecol*, 2011, **25** (2): 373-390
 - 21 Byrne PG, Roberts JD, Simmons LW. Sperm competition selects for increased testes mass in Australian frogs [J]. *J Evolution Biol*, 2002, **15** (3): 347-355
 - 22 Byrne PG, Simmons LW, Dale Roberts J. Sperm competition and the evolution of gamete morphology in frogs [J]. *Proc Biol Sci*, 2003, **270** (1528): 2079-2086
 - 23 Zeng Y, Lou SL, Liao WB, Jehle R. Evolution of sperm morphology in anurans: insights into the roles of mating system and spawning location [J]. *BMC Evol Biol*, 2014, **14** (1): 1-8
 - 24 IUCN SSC Amphibian Specialist Group. *Tylotriton taliangensis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2020: e.T59486A63871228 [EB/OL]. (2019-06-18) [2021-03-17]. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020-2.RLTS.T59486A63871228.en>
 - 25 龚宇舟, 王刚, 黄峰, 何流洋, 束潇潇, 谢锋. 大凉螭繁殖生态[J]. 生态学报, 2019, **39** (9): 3144-3152 [Gong YZ, Wang G, Huang F, He LY, Su XX, Xie F. Reproductive ecology of the Taliang crocodile newt (*Liangshantriton taliangensis*) [J]. *Acta Ecol Sin*, 2019, **39** (9): 3144-3152.]
 - 26 Gong Y, Shu G, Huang F, He L, Li C, Xie F. Courtship behaviour and male sexual competition of the Taliang crocodile newt, *Liangshantriton taliangensis* [J]. *Amphibia-Reptilia*, 2018, **39** (3): 275-288
 - 27 Doyle JM, McCormick CR, DeWoody JA. The quantification of spermatozoa by real-time quantitative PCR, spectrophotometry, and spermatophore cap size [J]. *Mol Ecol Resour*, 2011, **11** (1): 101-106
 - 28 Ginsberg JR, Huck UW. Sperm competition in mammals [J]. *Trends Ecol Evol*, 1989, **4** (3): 74-79
 - 29 Stockley P, Purvis A. Sperm competition in mammals: a comparative study of male roles and relative investment in sperm production [J]. *Func Ecol*, 1993, **7** (5): 560-570
 - 30 Osikowski A. Sperm transport after insemination in the Alpine newt (*Triturus alpestris*, Caudata, Salamandridae) [J]. *Folia Biol*, 2007, **55** (3-4): 109-114
 - 31 Sperone E, Bonacci A, Brunelli E, Tripepi S, Jamieson BGM. Male reproductive system in the Italian newt *Lissotriton italicus* (Peracca 1898) (Amphibia, Urodela): ultrastructural and morphological study with description of spermiogenesis, spermatozoon and spermatophore [J]. *Zoomorphology*, 2009, **128**(2): 183-195
 - 32 Stanton II HJ. Examining the influence of mating systems on testes size in salamanders [D]. Huntington: Marshall University, 2013
 - 33 Hettyey A, Laurila A, Herczeg G, Jönsson KI, Kovács T, Merilä J. Does testis weight decline towards the Subarctic? A case study on the common frog, *Rana temporaria* [J]. *Naturwissenschaften*, 2005, **92** (4): 188-192
 - 34 Zhou CQ, Mao M, Liao WB, Mi ZP, Liu YH. Testis asymmetry in the dark-spotted frog *Rana nigromaculata* [J]. *Herpetol J*, 2011, **21**(3): 181-185
 - 35 Leite GB, Franco-Belussi L, Provete DB, De Oliveira C. Comparative testis morphology of Neotropical anurans [J]. *Zool Anz*, 2015, **257**: 29-38
 - 36 Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis [J]. *Palaeontol Electron*, 2001, **4** (1): 1-9
 - 37 Elliott NG, Haskard K, Koslow JA. Morphometric analysis of orange roughy (*Hoplostethus atlanticus*) off the continental slope of southern Australia [J]. *J Fish Biol*, 1995, **46** (2): 202-220
 - 38 McCoy MW, Bolker BM, Osenberg CW, Miner BG, Vonesh JR. Size correction: comparing morphological traits among populations and environments [J]. *Oecologia*, 2006, **148** (4): 547-554
 - 39 Peig J, Green AJ. New perspectives for estimating body condition from mass/length data: the scaled mass index as an alternative method [J]. *Oikos*, 2009, **118** (12): 1883-1891
 - 40 Burnham KP, Anderson DR. Model Selection and Multimodel Inference: A Practical Information-Theoretic Approach [M]. 2th ed. New York: Springer, 2002
 - 41 Parker G A. Conceptual developments in sperm competition: a very brief synopsis [J]. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2020, **375** (1813): 20200061
 - 42 Pitnick S, Hosken DJ, Birkhead TR. Sperm morphological diversity [M]//Birkhead TR, Hosken D, Pitnick S. Sperm Biology: An Evolutionary Perspective. London: Academic Press, 2009: 69-149
 - 43 Gage MJG, Cook PA. Sperm size or numbers? Effects of nutritional stress upon eupyrene and apyrene sperm production strategies in the moth *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidea) [J]. *Funct Ecol*, 1994, **8** (5): 594-599
 - 44 Schulte-Hostedde AI, Millar JS. Intraspecific variation of testis size and sperm length in the yellow-pine chipmunk (*Tamias amoenus*): implications for sperm competition and reproductive success [J]. *Behav Ecol Sociobiol*, 2004, **55** (3): 272-277
 - 45 Amitin EG, Pitnick S. Influence of developmental environment on male *Drosophila melanogaster* [J]. *J Evol Biol*, 2007, **2** (1): 381-391
 - 46 Kahrl AF, Cox RM. Diet affects ejaculate traits in a lizard with condition-dependent fertilization success [J]. *Behav Ecol*, 2015, **26** (6): 1502-1511
 - 47 Vitt LJ, Caldwell JP. Herpetology: An Introductory Biology of Amphibians and Reptiles [M]. San Diego: Academic Press, 2013
 - 48 Sever DM. Female sperm storage in amphibians [J]. *J Exp Zool*, 2002, **292** (2): 165-179
 - 49 Birkhead TR, Martinez JG, Burke T, Froman DP. Sperm mobility determines the outcome of sperm competition in the domestic fowl [J]. *Proc Biol Sci*, 1999, **266** (1430): 1759-1764
 - 50 Wigby S, Chapman T. Sperm competition [J]. *Curr Biol*, 2004, **14** (3): R100-R103