

小地老虎雄蛾中胚层生殖道和附腺的 细胞结构和分泌功能*

陈长琨 李国清 王荫长 卢中建

(南京农业大学农业昆虫研究所, 南京 210095)

摘要 通过光镜、电镜及组织化学等方法, 研究了小地老虎生殖前期雄蛾中胚层生殖道和附腺的腺细胞结构和分泌功能, 以及与精子形态和数量变化的关系, 结果表明: (1) 以缢缩位置、解剖形态、细胞结构、分泌方式、精子形态变化和数量变动为依据, 将中胚层生殖道划分为修精囊、输精管、贮精囊、精包腺 1~5 段等 8 个区段; (2) 中胚层生殖道和附腺具有相同的组织层次, 自内向外分为单细胞上皮层、底膜、肌肉层和围膜等 4 层, 但缺少表皮质内层; (3) 中胚层生殖道和附腺的腺细胞具有旺盛的合成和分泌蛋白质的能力, 主要有内质网型和液泡型两种, 前者有发达的粗面内质网和高尔基体, 后者具有致密的核糖体和分泌泡; 至少有 4 种分泌方式: 即颗粒顶泌、液泡顶泌、胞质局泌和胞间分泌; 修精囊、贮精囊、雄性附腺、精包腺 1 段的顶泌物为糖蛋白性质 (PAS 阳性)、局泌物为非糖蛋白性质 (PAS 阴性)。

关键词 小地老虎, 雄性附腺, 生殖道, 超微结构, 分泌方式

鳞翅目夜蛾科昆虫雄性内生殖系统具有很长的管道和附腺, 一部分来自外胚层, 一部分来自中胚层, 整个系统的分段和定名, 在粘虫 *Mythimna separata*、棉铃虫 *Helicoverpa armigera*、和小地老虎 *Agrotis ypsilon* 中已有报道^[1~4], 前人对精巢和外胚层来源的生殖道的划分和定名较为一致, 但对中胚层来源的生殖道的争议较多, 命名各异。本文从细胞水平上, 研究了小地老虎雄蛾中胚层生殖道 (文中称生殖道) 的细胞结构和分泌功能, 以及与精子形态和数量变化的关系, 旨在为中胚层生殖道的划分和冠名, 以及其分泌物的生殖生理作用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

室外采集小地老虎越冬代蛾, 置室内累代饲养, 按试验要求取 4 日龄未交配的雄蛾中胚层生殖道和附腺备用。

1.2 光镜和电镜观察^[5]

试虫生殖道和附腺用 Carnoy 氏固定液固定半小时, 然后在不同浓度酒精中逐级脱

* 国家博士点基金资助项目

1996-06-07 收稿, 1997-11-10 收修改稿

水,二甲苯透明,石蜡包埋,切片厚度 7~8 μm ,苏木精-伊红和 PAS 染色,封片后光镜观察。

电镜观察的雄性中胚层生殖道和附腺,用 2%戊二醛及 1%锇酸双固定,Epon-812 包埋,超薄切片厚度 60 μm ,醋酸铀和柠檬酸铅染色。于 JEM-100cx II 型电镜下观察并拍照。

1.3 精子数量统计^[6]

将不同日龄雄蛾的修精囊和贮精囊,置于载玻片上,分别均匀涂布在 1 cm×2 cm 的蜡笔框内,Feulgen 染色,5 点取样,逐日统计精子数量。

2 结果与分析

2.1 解剖结构

从小地老虎雄蛾生殖系统的详细解剖观察中,发现 7 个缢缩(中胚层生殖道上显著收缩部位)分别存在于精包腺前端和后端、精包腺 1~5 各段之间、附腺基部。根据缢缩的位置、解剖形态、细胞结构、分泌方式、精子形态和数量变化等因素,本文将雄性中胚层生殖道分为 8 个区段:修精囊、输精管、贮精囊、精包腺 1~5 段,各段和雄性附腺的解剖学特点见表 1。再加上精巢和外胚层生殖道的 C 形管、铸颈管、射精管球和阴茎,共计包括 14 部分(图 1)。

表 1 小地老虎雄性中胚层生殖道和附腺的腺细胞结构和分泌特点

名称	管长* (mm)	腺细胞类型	分泌物色泽	分泌物性质及构象**
修精囊	6.3	内质网型和液泡型	乳白	PAS 阳性和阴性物呈放射状排列
输精管	12.3	液泡型	无色透明	PAS 阳性物均匀分布
雄性附腺	48.8	内质网型	红色或乳白	PAS 阳性和阴性物呈放射状排列
贮精囊	6.7	内质网型	乳白	PAS 阳性物均匀分布
精包腺一段	41.4	内质网型	乳白	PAS 阳性和阴性物呈放射状排列
精包腺二段	6.5	内质网型	乳白	PAS 阴性物均匀分布
精包腺三段	29.5	内质网型	乳白	PAS 阴性物均匀分布
精包腺四段	5.3	液泡型	乳白	PAS 阳性和阴性物呈年轮状排列
精包腺五段	10.0	液泡型	黄绿	PAS 阳性物均匀分布

* 5 个样品平均数;

** 经 PAS 染色后分泌物在腺腔横切面的构象

2.2 腺细胞特征和分泌方式

未交配 4 日龄雄蛾的中胚层生殖道和附腺横切面具有相同的组织层次,自内向外分为单细胞上皮层、底膜、肌肉层和围膜 4 层,它与来源于外胚层的生殖道显著区别在于细胞层内无表皮质内膜。中胚层生殖道和附腺各区段的腺细胞结构和分泌特点见表 1(附腺已另文发表^[7])。

2.2.1 腺细胞类型:中胚层生殖道细胞结构特点和充满腺腔的分泌物,皆表现它具有旺盛的合成和分泌蛋白质的能力。按亚细胞结构特点主要分为二种类型:(1)内质网型,具

发达的平行或轮纹状排列的粗面内质网, 高尔基体及其液泡成团集聚, 分散于内质网之间, 以细胞基区和中区为多; 线粒体多集中于顶区; 多数细胞顶区具稠密的微绒毛(图 2)。(2) 液泡型, 胞质内充满液泡, 较多的核糖体颗粒分散在液泡间或吸附在液泡膜外。根据液泡形状、内含物形态和电子密度的差异, 常见 4 种液泡: a. 多泡液泡, 内含物为小液滴; b. 网状液泡, 内含物絮状, 无定型结构; c. 均质液泡, 内含物均质无结构, 中等电子密度; d. 异质液泡, 内含物多种形态, 其电子致密度差异较大(图 3)。

2.2.2 分泌方式: 中胚层生殖腺的 9 个区段具有多种分泌方式, 从分泌物形态、分泌部位和分泌物在腺腔内构象特点, 主要归纳为 4 种方式: (1) 颗粒顶泌, 黑色圆形或椭圆形颗粒状分泌物从细胞顶端排入腺腔; (2) 液泡顶泌, 具界膜的液泡分泌物从细胞顶端排入腺腔; (3) 胞质局泌, 细胞顶区局部与细胞分离后排入腺腔, 中等电子密度的分泌物无定型

结构, 如絮状、网状或多液泡状, 分泌量较大, 液泡型和内质网型腺细胞都存在胞质局泌现象; (4) 胞间分泌, 分泌泡从相邻细胞侧膜交界处出胞(图版 I: 1, 2, 3, 5, 6)。

2.3 修精囊细胞结构和分泌物性质及囊内精子形态变化

修精囊有内质网型和液泡型二种细胞。前者为颗粒顶泌, 多形的黑色分泌颗粒存在于发达的细胞及其间隙内, 由微绒毛顶端泌入管腔, 后者为液泡顶泌; 两者有明显的局泌现象, 顶区细胞质局部脱落进入腺腔, 分泌量较大。经组织化学定性, 黑色分泌颗粒呈 PAS 阳性为糖蛋白质性质, 局泌物呈 PAS 阴性反应为非糖蛋白质性质。在腺腔横切面上, 二种分泌物并不混和, 呈有规则放射状排列(图版 I: 4)。

在充满分泌物的腺腔内, 从精巢排入的有核和无核精子结构发生改变。电镜观察到, 有核和无核精子从精巢排入此区后, 表面的超微结构发生显著变化, 片层外长物消失, 网状外长物则保留, 有核精子从头至尾或部分(核区)被一些中等电子致密物质覆盖, 其外有一层外套包围着整个细胞; 无核精子由成束排列变为散生, 精子表面也覆盖一些电子致密物质(已另文发表^[6])。这表明修精囊的分泌物具有修饰和改变精子结构的功能。

2.4 贮精囊的细胞结构和分泌物性质及囊内精子数量的积累

交配前期雄蛾贮精囊内有核精子束数量迅速增加(修精囊和输精管中数量很少)。测雄蛾 0、1、2、3、4 日龄贮精囊中有核精子束数量, 分别为 0、799、810、1303 和 1698 条/头, 平均每天增加 425 条。表现出此区段有明显的贮存精子的功能。

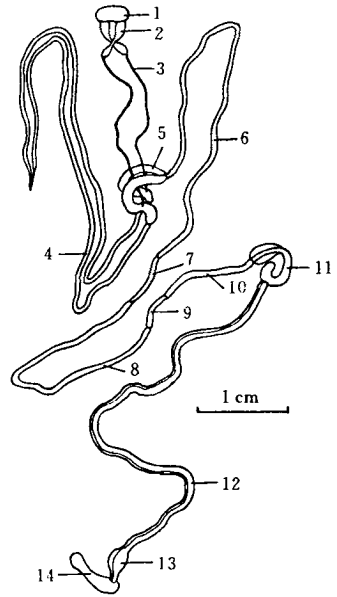


图 1 小地老虎雄性内生殖器官解剖结构

1. 精巢; 2. 修精囊; 3. 输精管; 4. 附腺; 5. 贮精囊;
6~10. 精包腺 1~5 段; 11. C 形管; 12. 铸颈管;
13. 射精管球; 14. 阴茎

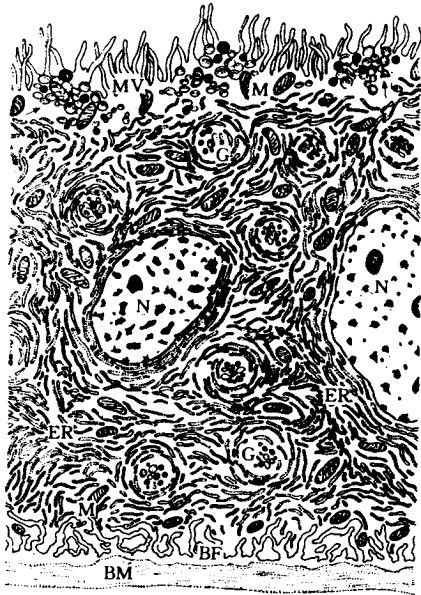


图 2 小地老虎雄蛾中胚层生殖道和附腺的内质网型细胞模式图
致密的内质网 (ER)、高尔基体 (G) 和分泌泡 (↑)

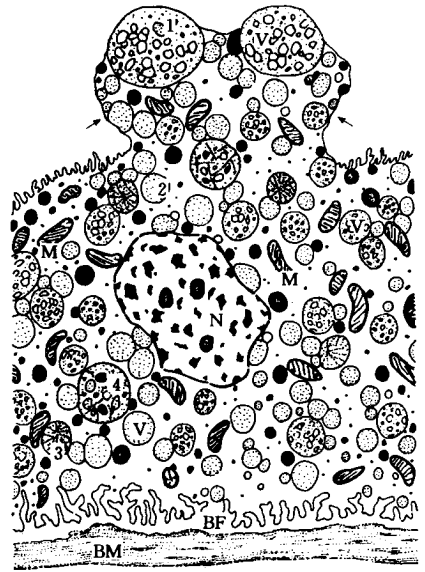


图 3 小地老虎雄蛾中胚层生殖道液泡型细胞模式图
多种液泡 (V) 和胞质局泌 (↑)
1. 多泡液泡; 2. 均质液泡; 3. 网状液泡; 4. 异质液泡

贮精囊细胞是最典型的内质网型，粗面内质网极致密，占有细胞横切面（除核外）的 1/2 以上；高尔基液泡及其组装的黑色分泌颗粒常成团积聚，散布于内质网之间；线粒体丰富。黑色分泌颗粒从顶膜泌入腺腔，分泌颗粒体积差异较大，PAS 反应呈强阳性（为糖蛋白质性质）（图版 I：2，3）。这些分泌物是精液的重要组成部分，对精子有进一步促进发育和营养作用。

2.5 精包腺 1~5 段细胞结构和分泌方式

夜蛾科昆虫此区段的分泌物形成精包已有定论，故命名为精包腺。生殖前期雄虫精包腺 1~5 各段（简称 S1~S5）的细胞特点见表 1。S1、S2、S3 为内质网型细胞，S1 内质网平等排列，S2、S3 则多为轮纹状排列；S4、S5 为液泡型细胞。精包腺各段分泌功能始于蛾龄 2 天，至蛾龄 4 天时腺腔内已充满分泌物。

在各段的分泌方式中，S1 的胞间分泌和 S4 的周期性局泌较为特殊。电镜观察到 S1 前端细胞有较旺盛的分泌能力，含有电子致密颗粒内含物的分泌泡（PAS 呈强阳性，为糖蛋白质性质）有规则地堆积于胞外细胞侧膜交界处，而量大的局泌物（PAS 阴性，为非糖蛋白质性质）与前者相间排列（图版 I：5），致使在腺腔横切面上分泌物呈放射状排列，与修精囊的相同。

S4 液泡型腺细胞具稠密的微绒毛和游离核糖体，胞质内多种分泌物成团积聚，从基区向顶区逐渐合并后，排入腺腔（图版 I：6）。在管腔横切面上，PAS 阳性和阴性分泌物混和成网状，同心轮纹状排列。因 2 日龄蛾的分泌物开始沉积于腺腔，4 日龄具 3 圈同

心轮纹,故推测分泌周期为 1 d。

3 讨论

对于小地老虎雄性中胚层生殖道和附腺的腺细胞结构和功能前人未有报道。本研究细胞结构剖析表明,内质网型细胞内致密的粗面内质网和高尔基体,液泡型细胞内丰富的游离核糖体和分泌液泡,皆表现出腺细胞具有旺盛的合成蛋白质的能力。众所周知,粗面内质网和游离核糖体是合成蛋白质能力的亚细胞结构指标,粗面内质网芽生出含有分泌物的具膜小泡,转移到高尔基体进一步浓缩加工,形成各种分泌物排入腺腔。因分泌物数量和性质差异,造成分泌物有多种形态和分泌方式:分泌泡中含中等电子致密的微粒和絮状物,或分泌颗粒具有电子致密的团块状内含物;有节律的细胞顶膜出泡,细胞间隙排放,或细胞顶区脱落的局部分泌;在腺腔横切面上,PAS 阳性的糖蛋白分泌物和 PAS 阴性的非糖蛋白分泌物有规则呈放射状排列,或混合后呈同心轮纹状排列。夜蛾科雄蛾中胚层生殖道和附腺的分泌物是形成精包和组成精液的成份,这在粘虫和棉铃虫中已确证^[8,9]。对小地老虎来说,细胞旺盛的分泌功能及多种分泌物表现出它的多功能性,是对多次交配的生殖适应,能为形成精包和组成精液源源不断地提供原料。这也是夜蛾科小地老虎、棉铃虫等害虫能在短时间内大量繁殖,极易暴发成灾的一个重要生理因素。

对夜蛾科昆虫雄性中胚层生殖道的分段存在众多异议,主要分歧在于分段和命名的依据不一^[1~4],本文在前人研究的基础上,以解剖形态、细胞结构和功能以及精子在生殖腺内形态和数量变化为依据,将小地老虎中胚层生殖道自前向后划分为具有特定生殖功能的 9 个区段:即修饰和改变精子形态的修精囊,输送精子的输精管,分泌精液的雄性附腺,贮存精子的贮精囊,形成精包的精包腺 1~5 段。作者认为这种对小地老虎雄蛾中胚层生殖道各区段的命名方法较为合理,更具有科学性。

参 考 文 献

- 1 孙少轩,牟吉元. 粘虫雄性生殖系统的组织学及精巢的后胚发育. 山东农学院院报, 1963, (8): 83~86
- 2 赵万源. 粘虫精液在雌性生殖系统中的分布转移及其作用. 昆虫学报, 1981, 24 (2): 135~141
- 3 Hoque M R. Comparative morphology of the reproductive systems of *Heliothis armigera* and *Heliothis punctigera*. Bangladesh Journal of Zoology, 1992, 20 (1): 17~26
- 4 卢 箐. 小地老虎生殖系统的研究. 昆虫学报, 1982, 25 (3): 268~274
- 5 陈长琨, 韩召军, 王荫长编. 昆虫生理生化实验. 北京: 中国农业出版社, 1993. 144~145
- 6 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
- 7 陈长琨, 李国清, 王荫长. 小地老虎雄性附腺结构和功能及高温的影响. 昆虫学报, 1995, 38 (2): 179~183
- 8 Amaldoss G. Fine structure of the regional differentiation of the ductus ejaculatorius simplex along with the role of their secretion in sperm activation and motility in two noctuid species, *Heliothis armigera* and *Spodoptera litural* I. Animal Sciences, 1990, 99 (1): 1~17
- 9 牟吉元. 粘虫精液授精的研究. 昆虫学报, 1980, 23 (1): 16~23

ULTRASTRUCTURE AND SECRETORY FUNCTION OF THE MESODERMAL REPRODUCTIVE TRACT AND ACCESSORY GLANDS IN THE ADULT MALE BLACK CUTWORM, *AGROTIS YPSILON*

Chen Changkun Li Guoqing Wang Yinchang Lu Zhongjian

(Institute of Agricultural Entomology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

Abstract Ultrastructure and secretory function of the mesodermal reproductive tract and accessory glands in the adult male black cutworm, *Agrotis ypsilon*, were studied with light and electron microscopies and histo-chemical method. The results were summarized as follows:

(1) The male mesodermal reproductive tract was divided into eight regions; sperm modification vesicle, vas deferens, seminal vesicle and spermatophore gland in 1-5 segments, based on the constriction location, anatomical characters, ultrastructure, secretory manner and sperm variation in both form and amount.

(2) The histological structure of male mesodermal reproductive tract showed it consisted of four layers; single epithelium, basal lamella, muscle layer and peritoneal membrane, but without a cuticular intima.

(3) The secretory cells of the tract and gland had good capacity for protein synthesis and secretion. They were classified into two main types on the basis of organelles in the cytoplasm; (a) endoplasmic reticulum type, which had a lot of rough endoplasmic reticula and Golgi complexes; (b) vacuole type, which had a great number of secretory vacuoles and free ribosomes. There were at least four secretory manners in these cells, i. e. granular apocrine, vacuole apocrine, cytoplasm merocrine and intercellular secretion.

Key words *Agrotis ypsilon*, male accessory glands, reproductive tract, ultrastructure, secretory manner

图 版 说 明

图 版 I

小地老虎雄蛾中胚层生殖道和附腺的细胞结构

1. 修精囊内质网型细胞, 示颗粒顶泌(↑) × 7 200;
2. 贮精囊内质网型细胞, 示高尔基体(G)内的分泌颗粒(↑), 及致密的粗面内质网(ER) × 19 000;
3. 贮精囊内质网型细胞顶区, 示颗粒顶泌(↑)和线粒体(M) × 14 000;
4. 修精囊腺腔横切面, 示腔内PAS阳性分泌物(深色)和阴性分泌物(浅色)呈放射状排列 × 300;
5. 精包腺一段内质网型细胞顶区, 示分泌泡(V)从细胞交界处(↑)释入腔内 × 10 000;
6. 精包腺四段液泡型细胞顶区, 示胞质局泌(↑)和胞质内液泡(V) × 7 200

ER 内质网, G 高尔基体, M 线粒体, L 管腔, MV 微绒毛, V 分泌液泡

