

日本弓背蚁雄蚁生殖系统结构 及其化学组成研究^{*}

李长有^{**} 王云果 贺 虹^{***}

(西北农林科技大学林学院, 陕西省林业综合重点实验室, 杨凌 712100)

摘 要 【目的】雄蚁是蚂蚁巢群的重要成员, 主要参与种群的繁殖。本文对日本弓背蚁 *Camponotus japonicus* 雄蚁的生殖系统结构及其化学组成进行了研究, 拟为进一步开展雄蚁的生殖行为研究提供基础信息。【方法】利用光学和扫描电镜观察了雄蚁的生殖系统结构, 并利用 GC-MS 方法分析了其化学组成。

【结果】(1) 雄蚁生殖系统包括 1 对附腺、1 对输精管和射精管 3 部分, 睾丸退化消失; 附腺最为发达, 肾形, 乳白色; 输精管简单细长, 与附腺基部 1/3 处相连。扫描电镜下发现附腺表面平坦, 包裹有发达的网状肌肉组织。(2) 利用 GC-MS 方法检测到 13 种化学物质, 主要以醛类、烃类和酸类为主, 分别占 29.31%、21.87% 和 20.56%, 还有一些醇类 (12.71%) 和酯类 (15.05%); 含量最高的 3 种成分分别为十八烯醛 (15.86%)、11-十六烯醛 (13.45%) 和 9, 12, 15-十八碳三烯酸-2, 3-二羟基丙酯 (11.78%)。【结论】雄蚁生殖系统主要由附腺、输精管和射精管三部分组成, 其中附腺最为发达, 输精管细长, 睾丸退化消失; 生殖系统中含有多重化学成分, 但其功能还有待于进一步的研究。

关键词 日本弓背蚁, 雄蚁, 生殖系统, 化学组成

The male internal reproductive system, including chemical compounds, of the carpenter ant *Camponotus japonicus* Mayr

LI Chang-You^{**} WANG Yun-Guo HE Hong^{***}

(College of Forestry, Key Laboratory of Comprehensive Forestry of Shaanxi Province,
Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

Abstract 【Objectives】To describe the internal reproductive system of male *Camponotus japonicus*, and analyze chemical compounds associated with this system, in order to provide baseline data for further study of male reproductive behavior.

【Methods】The male internal reproductive system was observed under optical and scanning electron microscopy (SEM), and associated chemical compounds were analyzed using GC-MS. 【Results】(1) The male reproductive system consists of one pair of accessory glands and one pair of vas deferentia and an ejaculatory duct; the testes degenerate and eventually disappear. The paired accessory glands are developed and milky white. The vas deferentia are simple and slender, and each connects with the lower third of each lobe of the accessory gland at the base. The surface of the accessory glands is relatively smooth and can be seen to be covered in muscle tissue under SEM. (2) Thirteen chemical compounds were identified, mainly comprised of aldehydes, olefins and acids, accounting for 29.31%, 21.87% and 20.56%, of the total, respectively. Some alcohols (12.71%) and esters (15.05%) were also detected. The most abundant components were cctadecatrienal (15.86%), 11-hexadecenal (13.45%), and 9,12,15-18 carbon triene acid-2,3-2 hydroxy propyl ester (11.78%). 【Conclusion】The male reproductive system is comprised of three parts; the accessory glands, which are fully developed, the vas deferentia, which are slender, and the testes, which degenerate and disappear. Thirteen chemical compounds were found in the male reproductive system but their functions have yet to be investigated.

Key words *Camponotus japonicus*, male ant, reproductive system, chemical compound

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目 (No. 31070342, No.31570388); 林业公益性行业科研专项 (201404302-4)

**第一作者 First author, E-mail: 2207297702@qq.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: hehong@nwsuaf.edu.cn

收稿日期 Received: 2016-04-08, 接受日期 Accepted: 2016-04-19

蚂蚁隶属昆虫纲膜翅目蚁科 Formicidae, 是典型的社会性昆虫, 具有明显的品级分化和个体分工, 依据其形态、行为和社会分工, 可以分成 3 个基本品级如雌蚁 (蚁后)、工蚁和雄蚁 (吴坚和王常禄, 1995; 尚玉昌, 2006), 雌蚁根据功能又分为更多品级, 而雄蚁则没有真正的多型性。雄蚁在整个蚂蚁社会生活中存在的时间较其他品级短, 它们不参加劳动, 仅仅接受同伴的食物, 在适当的季节进行婚飞交配, 之后即死去 (Hölldobler and Wilson, 1990)。因此, 相对于其他品级, 雄蚁的研究较少。

雄蚁在蚂蚁社会中的主要任务是参与种群繁殖, 目前关于雄蚁的研究多集中于少数几种蚂蚁的生殖行为和雄性生殖系统结构及其腺体化学成分研究 (Ball and Vinson, 1984; Wheeler *et al.*, 1990; Wheeler and Krutzsch *et al.*, 1992; Heinze and Tsuji, 1995; Keller *et al.*, 1997; Ayasse *et al.*, 2001; Mikheyev, 2003, 2004; 詹光杰和奚耕思, 2009; Jones *et al.*, 2010; Chen and Grodowitz *et al.*, 2016)。雄蚁的生殖系统包括睾丸、输精管、附腺和射精管 4 个部分, 各部分结构在不同种类间存在明显的差异和变化, 其中附腺较为发达, 其分泌物在与雌性交配的生殖生物学方面如排卵、产卵、卵的保护以及精子的活力等方面发挥着重要作用 (Gotwald and Burdette, 1981; Gillott, 2003; Mikheyev, 2003)。

日本弓背蚁 *Camponotus japonicus* Mayr 是我国广泛分布、个体较大的蚂蚁种类, 其种群数量较大, 而且存在明显的多型现象和地理变异 (尹绍竑和杨灵芝, 1986; 吴坚和王常禄, 1995; 高文韬等, 2005), 并且体内含有大量内共生菌 *Blochmannia* 以及其他肠道微生物 (Sauer *et al.*, 2000; He *et al.*, 2011, 2014; Li *et al.*, 2012; 朱卓琳等, 2015; 张君等, 2016)。日本弓背蚁成熟巢每年秋季产生带翅雌蚁和雄蚁, 翌年 4—5 月外出婚飞交配, 之后雄蚁即死去。因此雄蚁可以在蚁巢内生活整个冬季, 其生存时间较长 (戴德纯等, 1986; 吴坚和王常禄, 1995)。本文对日本弓背蚁雄蚁的生殖系统形态结构及其化学组成进行了初步研究, 拟为进一步开展雄蚁

的生殖行为研究提供基础信息。

1 材料与方法

1.1 蚂蚁采集及腺体解剖

2015 年 5 月, 在西北农林科技大学校园内, 通过挖掘日本弓背蚁巢采集获得带翅雄蚁。在实验室将雄蚁用解剖针固定在蜡盘上, 在体视解剖镜下用镊子小心地去除足和翅, 滴生理盐水 (0.65%) 淹没其腹部, 然后用解剖针小心剥离腹部表皮, 露出生殖系统, 最后转移到立体变焦显微镜下观察和拍照 (Motic SMZ-168)。

1.2 扫描电镜样品的制备观察

在体视显微镜下, 将雄蚁浸在 2.5% 的戊二醛中进行解剖, 将解剖出的生殖系统放入装有 1.0 mL 戊二醛的离心管中 (1.5 mL), 放入 4℃ 冰箱中固定 12 h, 然后用 0.1 mol/L 的磷酸盐缓冲液清洗 3 到 4 次, 每次间隔 15 min; 清洗后的组织在一系列的酒精梯度下脱水 (30%、50%、70%、80%、90%、100%), 然后用乙酸异戊酯置换一次, 在二氧化碳临界点下干燥。最后样品被粘在载物台上喷金, 喷金后的标本在 JEOL JSM-6360 LV 扫描电镜下观察和照相。

1.3 化学成分分析

将雄蚁放置于含有预先滴好蒸馏水的凹面载玻片上, 在解剖镜下解剖出 5 个雄蚁的完整生殖系统, 放入盛有正己烷的色谱瓶中萃取 2 h, 然后进行 GC-MS (仪器型号 LTQ-XL, 美国) 测定。

色谱条件: 样品池温度 180℃。色谱柱程控温度 50℃ (保存 1 min), 以 20℃/min 的速度升至 240℃ (保存 10 min), 再以 10℃/min 的速度升至 280℃ (保存 8 min)。进样量 1 μL。

质谱条件: 电子轰击源 (70 eV), 离子源温度 250℃, 传输线温度 270℃。

对于获得的质谱图, 采用人工解析及 NIST05 标准谱库检索定性, 峰面积归一化法定量分析, 计算出各成分的相对百分含量。

2 结果与分析

2.1 雄蚁生殖系统结构

日本弓背蚁雄蚁的生殖系统比较简单,主要包括 1 对附腺、1 对输精管和射精管 3 部分(图 1, A)。附腺最为发达,乳白色不透明、湿润饱满;附腺两部分大小形状相同,都为肾形,长约 (1.33 ± 0.21) mm,宽约 (0.5 ± 0.2) mm,基部合并连接到射精管。1 对细长的输精管分别与附腺在其基部 1/3 的位置相连,白色半透明,每个输精管长约 (1.5 ± 0.32) mm,直径约 (0.14 ± 0.05) mm。输精管顶端的睾丸退化消失。

在扫描电镜下,生殖副腺和输精管表面平坦,没有明显的突起和其他结构,输精管直径不均匀(图 1: B, C),射精管细长(图 1: B);在更高的倍数下发现生殖副腺表面包裹发达的网状肌肉组织(图 1: D)。

2.2 雄蚁生殖系统的化学组成

雄蚁生殖系统的总离子流图如图 2,主要根据保留时间和质谱库进行初步辨认,共鉴定出 13 种化学物质(表 1),其中以醛类、烃类和酸类为主,分别占 29.31%、21.87%和 20.56%。还有少量的醇类和酯类,分别占 12.71%和 15.05%。其中酸类 4 种,分别是正十六酸、17-十八炔酸、9-十六烯酸和 7-十八烯酸;烃类 3 种包括 7-十八碳烯、9-十九烯和 10-二十一烯;醛类两种,分别为 11-十六烯醛和十八烯醛;还含有两种醇类(13-十七烯-1-醇、环十五醇)和两种酯类(9, 12, 15-十八碳三烯酸-2, 3-二羟基丙酯和 4-羟基-十八碳酸甲酯)。其中含量最高的 3 种成分分别为十八烯醛(15.86%)、11-十六烯醛(13.45%)和 9, 12, 15-十八碳三烯酸-2, 3-二羟基丙酯(11.78%)。

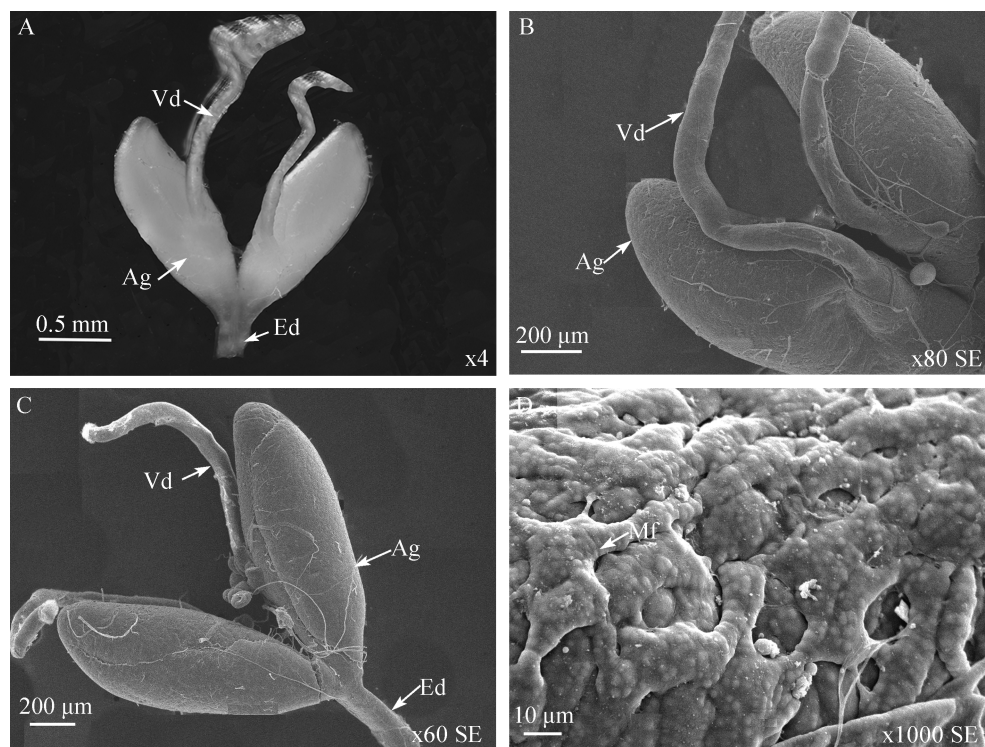


图 1 日本弓背蚁雄蚁生殖系统结构

Fig. 1 Structure of male reproductive system of *Camponotus japonicus*

A. 光学显微镜下雄蚁生殖系统结构; B, C, D. 扫描电镜下雄蚁生殖系统的形态特征。

Ag: 附腺; Ed: 射精管; Mf: 肌肉纤维; Vd: 输精管。

A. Structure of male reproductive system under the optical microscope; B, C, D. Morphology of male reproductive system under the SEM; Ag: Accessory gland; Ed: Ejaculatory duct; Mf: Muscle fiber; Vd: Vas deferens.

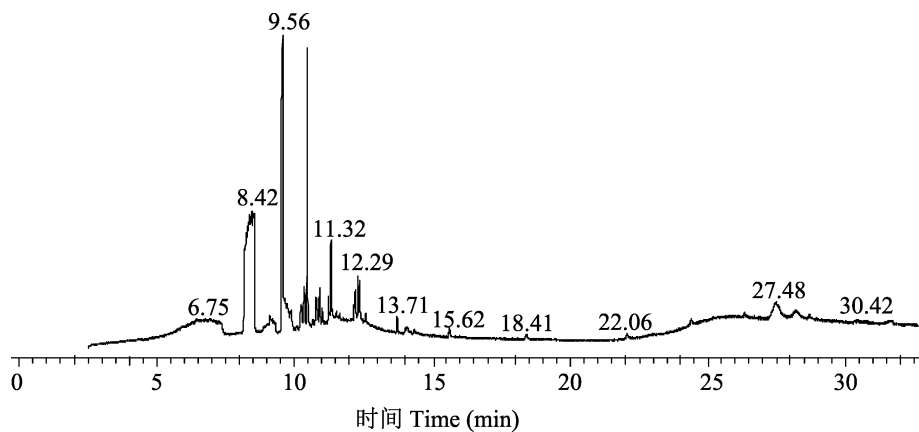


图 2 日本弓背蚁雄蚁生殖系统化学成分 GC-MS 总离子流图

Fig. 2 GC-MS total ion current chromatograms of chemical component derived from male reproductive system of *Camponotus japonicus*

表 1 日本弓背蚁雄蚁生殖系统化学成分的 GC-MS 鉴定结果

Table 1 Identification of chemical components in male reproductive system of *Camponotus japonicus* by GC-MS

保留时间 Retention time (min)	化合物名称 Compounds	分子式 Formula	相对含量 (%) Relative content (%)	类型 Kinds
8.42	7-十八碳烯	C ₁₈ H ₃₆	4.08	烃
9.56	十八烯醛	C ₁₈ H ₃₄ O	15.86	醛
9.87	13-十七烯-1-醇	C ₁₇ H ₃₂ O	9.43	醇
10.23	9-十九烯	C ₁₉ H ₃₈	8.56	烃
10.34	11-十六烯醛	C ₁₆ H ₃₀ O	13.45	醛
10.78	10-二十一烯	C ₂₁ H ₄₂	9.23	烃
11.00	环十五醇	C ₁₅ H ₃₀ O	3.28	醇
11.32	正十六酸	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	5.55	酸
11.51	17-十八炔酸	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	3.75	酸
12.20	9,12,15-十八碳三烯酸-2,3-二羟基丙酯	C ₂₁ H ₃₆ O ₄	11.78	酯
12.29	9-十六烯酸	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	8.23	酸
13.71	4-羟基-十八碳酸甲酯	C ₁₉ H ₃₈ O ₃	3.27	酯
14.34	7-十八烯酸	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	3.03	酸

另外, 在色谱图中还观察到一些被夹带到产物中的硅油成分, 尤其是环状的甲基硅氧烷 (Si5~Si10), 含量最高的是 Si7 成分, 可能是由于色

谱瓶中污染物亦或是在测定过程中流柱导致的。

3 讨论

典型的昆虫雄性生殖系统包括 1 对睾丸(精巢)、1 对附腺、1 对输精管和 1 根射精管, 蚂蚁雄性生殖系统也基本包括这几个部分, 但与其他昆虫不同的是蚂蚁雄性生殖系统中各个部分发生明显的特化:(1)大部分种类的雄蚁在成虫期睾丸退化萎缩, 甚至消失;(2)附腺非常发达, 其形状在不同的蚂蚁种类中存在差异, 有肾形、圆球状、螺旋状或者长圆筒状;(3)一些种类的输精管细长, 而在一些种类中输精管膨大形成储精囊 (Gotwald and Burdette, 1981; Ball and Vinson, 1984; Wheeler and Kruttsch, 1992; Mikheyev, 2003, 2004; 詹光杰和奚耕思, 2009; Chen *et al.*, 2015)。

本研究发现日本弓背蚁雄蚁的生殖系统主要由输精管、附腺和射精管组成, 附腺发达, 睾丸退化消失, 这与 Wheeler 等 (1992) 对其他 3 种弓背蚁 (*Camponotus festinatus*、*C. sayi* 和 *C. mina*) 雄蚁的生殖系统研究结果基本一致。睾丸在雄成虫阶段的退化消失在社会性昆虫如蚂蚁和蜜蜂中非常普遍, 研究发现精子在雄蚁的蛹期已经完成, 羽化后, 随着雄蚁的成熟, 精子进入输精管、保存在生殖附腺中, 睾丸随之变小退化 (Gotwald and Burdette, 1981)。本研究采集的

是处于即将婚飞期的雄蚁,此时,精子已经通过输精管完全进入生殖附腺,所以生殖附腺比较发达,看起来湿润饱满,而睾丸已经完全消失。此外,雄性生殖附腺形态在不同蚂蚁种类中差异较大,Mikheyev (2004)解剖了7个切叶蚁属的17种蚂蚁的雄性附腺,发现可以和多个雌蚁交配的雄蚁其附腺比较小和退化,但输精管比较发达;而只能和一头雌蚁交配的雄蚁附腺则比较发达,因此认为附腺形态、大小与切叶蚁生殖策略具有密切的关系,这可能决定了受精过程中是“一雌一雄”还是“一雌多雄”;此外,附腺的大小还会影响蚁群中蚁后的数量以及工蚁的比例。

关于蚂蚁雄性生殖系统中相关化学成分研究仅有零星报道,Jones等(2010)从切叶蚁亚科Myrmicinae小家蚁属*Monomorium*和火蚁属*Solenopsis*蚂蚁的雄性生殖系统中发现4种胺类生物碱,但其生物学功能未知;Mikheyev(2003)利用GC/MS方法在红火蚁*Solenopsis invicta*雄蚁的生殖附腺内鉴定出4种脂肪酸(9,12,15-十八碳三烯酸、9-十八碳烯酸、正十六酸、正十八烷酸),并且发现这4种物质能在交配的过程中进入雌蚁体内。这些物质类似于欧洲雄蜂*Bombus terrestris*生殖附腺分泌的化学物质,被认为具有抑制雌性重新再交配的作用(Baer et al., 2000);Chen和Grodowitz(2016)在红火蚁雄性生殖系统附腺内又发现一种新的胺类生物碱,但还无法确定它们的生物学功能。

Wheeler和Krutzsch(1992)曾利用SDS-PAGE方法对3种弓背蚁生殖附腺分泌物中的化学成分进行了分析,发现其主要的成分是碳水化合物,但没有确定具体的化学物质。本研究首次利用GC-MS方法从日本弓背蚁雄性生殖系统主要是生殖附腺和输精管中鉴定出13种化合物,其中4种物质(正十六酸、17-十八烯酸、9-十六烯酸和7-十八烯酸)与Mikheyev(2003)在红火蚁雄蚁附腺内发现的化学物质十分相似,并且还发现了红火蚁体内含量最高的酸(9,12,15-十八碳三烯酸)所对应的酯(9,12,15-十八碳三烯酸-2,3-二羟基丙酯),而且这种酯是日本弓背蚁生殖附腺中的主要成分之一。此外,

本研究还发现其他多种酸、醛、烃、醇和酯类物质,但还不能确定这些化学物质在雄性蚂蚁中发挥的作用。目前在雌性蚂蚁相关腺体如杜氏腺和毒腺内化学成分的研究较为深入,发现许多化学物质如碳氢化合物、酯类及挥发性含氧化合物在蚂蚁的社会生活中发挥着各种各样的功能,但其最原始的功能主要与雌性生殖有关(朱家颖等,2007)。因此,雄蚁生殖系统中的化学物质应该与其生殖行为和策略具有密切的关系,它们的具体功能还有待于进一步的深入研究和验证。

参考文献 (References)

- Ayasse M, Paxton RJ, Tengö J, 2001. Mating behavior and chemical communication in the order Hymenoptera. *Annual Review of Entomology*, 46: 31–78.
- Baer B, Maile R, Schmid-Hempel P, Morgan ED, Jones GR, 2000. Chemistry of a mating plug in bumblebees. *Journal of Chemical Ecology*, 26(8): 1869–1875.
- Ball DE, Vinson SB, 1984. Anatomy and histology of the male reproductive system of the fire ant, *Solenopsis invicta*. *Journal of Insect Morphology & Embryology*, 13(4): 283–294.
- Chen J, Grodowitz MJ, 2016. Tyramides in male alates of black imported fire ants, *Solenopsis richteri* (Hymenoptera: Formicidae). *Insect Science*, 17(3): 11–14.
- Dai DC, Wang ZW, Li GH, Ge BW, Xu JS, Zheng HQ, 1986. The research of *Camponotus japonicus* and the roles to control the pine moth. *Forest Pest and Disease*, 5(1): 4–6. [戴德纯, 王振威, 李桂和, 葛葆蔚, 徐进生, 郑红旗, 1986. 日本木工蚁及其对松毛虫控制作用的研究. 森林病虫害通讯, 5(1): 4–6.]
- Gao WT, Meng QF, Liu S, 2005. Bionomics of *Camponotus japonicus*. *Forest Pest and Disease*, 24(4): 26–28. [高文韬, 孟庆繁, 刘思, 2005. 日本弓背蚁的生物学特性. 中国森林病虫害, 24(4): 26–28.]
- Gillott C, 2003. Male accessory gland secretions: modulators of female reproductive physiology and behavior. *Annual Review of Entomology*, 48: 163–84.
- Gotwald WH, Burdette AW, 1981. Morphology of the male internal reproductive system in army ants: phylogenetic implications (Hymenoptera: Formicidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 83(1): 72–92.
- He H, Chen YY, Zhang YL, Wei C, 2011. Bacteria associated with gut lumen of *Camponotus japonicus* Mayr. *Environ. Entomol.*, 40: 1405–1409.
- He H, Wei C, Wheeler DE, 2014. The gut bacterial communities associated with lab-raised and field-collected ants of *Camponotus fragilis* (Formicidae). *Current Microbiology*, 69(3): 292–302.

- Heinze J, Tsuji K, 1995. Ant reproductive strategies. *Researches on Population Ecology*, 37(2): 135–149.
- Hölldobler B, Wilson EQ, 1990. The Ants. Cambridge: Harvard University Press. 298–302.
- Jones TH, Garraffo HM, Spande TF, Andriamaharavo NR, Gorman JS, Snyder AJ, Jeter, AW, Torres JA, Snelling RR, Daly JW, 2010. Caste-specific tyramides from *Myrmicine* ants. *Journal of Natural Products*, 73(3): 313–316.
- Keller L, Sundström L, Chapuisat M, 1997. Male reproductive success: paternity contribution to queens and workers in *Formica* ants. *Behavioral Ecology & Sociobiology*, 41(1): 11–15.
- Li XP, Nan XN, Wei C, He H, 2012. The gut bacteria associated with *Camponotus japonicus* Mayr with culture-dependent and DGGE methods. *Current Microbiology*, 65(5): 610–616.
- Mikheyev AS, 2003. Evidence for mating plugs in the fire ant *Solenopsis invicta*. *Insectes Sociaux*, 50(4): 401–402.
- Mikheyev AS, 2004. Male accessory gland size and the evolutionary transition from single to multiple mating in the fungus-gardening ants. *Journal of Insect Science*, 4(1): 37.
- Sauer C, Stackebrandt E, Gadau J, Hölldobler B, Gross R, 2000. Systematic relationships and cospeciation of bacterial endosymbionts and their carpenter ant host species: proposal of the new taxon *Candidatus Blochmannia* gen. nov. *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*, 15(3): 1877–1886.
- Shang YC, 2006. The social life of ant. *Bulletin of Biology*, 41(4): 5–7. [尚玉昌, 2006. 蚂蚁的社会生活. 生物学通报, 41(4): 5–7.]
- Wheeler DE, Kruttsch PH, 1992. Internal reproductive system in adult males of the genus *Camponotus* (Hymenoptera: Formicinae). *Journal of Morphology*, 211(3): 307–317.
- Wheeler DE, Crichton EG, Kruttsch PH, 1990. Comparative ultrastructure of ant spermatozoa (Formicidae: Hymenoptera). *Journal of Morphology*, 206(3): 343–350.
- Wu J, Wang CL, 1995. The Ant of China. Beijing: Chinese Forestry Publishing House. 1–10, 181–182. [吴坚, 王常禄, 1995. 中国蚂蚁. 北京: 中国林业出版社. 1–10, 181–182.]
- Yin SH, Yang LZ, 1986. The morphology and life habits of *Camponotus japonicus*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 23(5): 215–217. [尹绍弘, 杨灵芝, 1986. 大黑蚁的形态及生活习性的初步观察. 昆虫知识, 23(5): 215–217.]
- Zhan GJ, Xi GS, 2009. Observation on inner reproductive system of *Polyrhachis vicina* Rog. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 37(12): 5518–5520. [詹光杰, 奚耕思, 2009. 拟黑多刺蚁内生殖系统的观察. 安徽农业科学, 37(12): 5518–5520.]
- Zhang J, Nan XN, Wei C, Wang YG, He H, 2016. Bacterial composition of the infrabuccal pocket of *Camponotus japonicus* Mayr. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 53(1): 164–173. [张君, 南小宁, 魏琮, 王云果, 贺虹, 2016. 日本弓背蚁颊下囊内含物中细菌的组成研究. 应用昆虫学报, 53(1): 164–173.]
- Zhu JY, Ye GY, Hu C, 2007. Research progress on morphology, secretion and function of Dufour gland in Hymenoptera. *Acta Entomologica Sinica*, 50(6): 616–620. [朱家颖, 叶恭银, 胡萃, 2007. 膜翅目昆虫杜氏腺形态结构、内分泌物与功能的研究进展. 昆虫学报, 50(6): 616–620.]
- Zhu ZL, Nan XN, Wang YG, He H, 2015. The isolation of anaerobic bacteria from the gut of *Camponotus japonicus*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 52(4): 1032–1039. [朱卓琳, 南小宁, 王云果, 贺虹, 2015. 日本弓背蚁消化道厌氧细菌的分离培养. 应用昆虫学报, 52(4): 1032–1039.]