

DOI:10.12403/j.1001-1498.20230135

# 云南切梢小蠹雄性内生殖器形态与精子超微结构

鲁国艳, 张梦蝶, 张艳琳, 杨 斌, 李宗波\*

(西南林业大学生物多样性保护学院 云南省森林灾害预警与控制重点实验室, 云南 昆明 650224)

**摘要:** [目的] 昆虫生殖是种群维持与繁荣的重要手段, 研究云南切梢小蠹雄性生殖系统及其精子结构, 对于探究云南切梢小蠹的持续危害规律及其灾变机理具有重要的理论和现实意义。[方法] 以云南切梢小蠹新羽化成虫(性未成熟)和蛀干前期成虫(性成熟)为研究对象, 用光学显微镜和透射电子显微镜观察雄性内生殖器形态与精子超微结构。[结果] 云南切梢小蠹雄性内生殖器由1对精巢、2对管状附腺、1对多管状腺体、1对储精囊、1对输精管和1根射精管组成, 各组成器官在初孵时管壁纤薄, 无色透明状; 待性成熟后, 管壁则明显增厚, 精巢和多管状腺体呈橙黄色, 而其它部分则为乳白色, 储精囊内亦出现大量的精子。每个精子外形为线状, 全长  $170.1 \pm 39.1 \mu\text{m}$ , 分为头部和尾部两部分。头部似针状, 长  $23.5 \pm 3.4 \mu\text{m}$ , 包括1个3层的顶体复合体和1个圆柱状的细胞核; 尾部细长, 由2个大小不等的线粒体衍生物、2个等大的管胞、1个壶嘴状的中心体衍生物和1个典型的9+9+2式轴丝组成, 但各细胞器的形态高度分化, 不对称, 管胞、小线粒体衍生物、管胞、大线粒体衍生物向尾部末端方向则逐渐消失不见。[结论] 云南切梢小蠹雄性内生殖器的形态、组成以及精子超微结构与象虫科昆虫类似, 特别是3层的顶体复合体、9+9+2式轴丝以及高度分化的尾部细胞器, 研究结果不仅可丰富小蠹亚科的昆虫分类与系统发育研究, 而且可为深入理解云南切梢小蠹的受精生理提供参考。

**关键词:** 昆虫生殖; 云南切梢小蠹; 精巢; 精子结构; 电子显微镜

**中图分类号:** S763.3

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1001-1498(2024)01-0041-11

生殖是昆虫种群延续和繁荣的重要手段, 主要分为有性生殖 (Sexual reproduction) 和孤雌生殖 (Parthenogenesis) 两大类, 特别是前者, 其两性配子的结合不仅直接决定昆虫种群内驱动力, 而且对于“整合”害虫的各项治理措施具有重要的参考意义<sup>[1-2]</sup>。云南切梢小蠹 (*Tomicus yunnanensis*) 隶属于鞘翅目 (Coleoptera)、象虫科 (Curculionidae)、小蠹亚科 (Scolytinae), 是我国西南地区云南松松林的毁灭性害虫<sup>[3]</sup>。自上世纪80年代爆发危害以来, 该蠹虫迄今已导致大于15万公顷的云南松林死亡, 且持续向四川、贵

州、西藏等地区蔓延扩散<sup>[4]</sup>。与其它树皮小蠹相比<sup>[3, 5]</sup>, 云南切梢小蠹具有两个典型的危害特征, 即蛀梢期和蛀干期。前者是新羽化的成虫离开繁殖树 (Natal tree), 重新寻找健康的松树, 并蛀入嫩梢取食, 借以补充营养, 完成生殖系统的发育成熟; 后者是性成熟的个体, 则会选择树势衰弱的云南松, 按照自上至下的方式蛀入树干产卵、繁殖后代, 此时会阻断树木水分和营养物质输送, 导致树木死亡<sup>[3, 6-7]</sup>。

如何使云南切梢小蠹有虫不成灾, 基于害虫种群区域性生态调控的系统策略是关键, 这就需要研

收稿日期: 2023-03-30 修回日期: 2023-05-26

基金项目: 国家自然科学基金 (31560213); 云南省高原特色农业领域科技计划项目 (202302AE090017); 云南省基础研究重点项目 (202101AS070009; 2018FG001-010); 云南省高层次人才培养支持计划项目“青年拔尖人才”(YNWR-QNBJ-2018-131)

\* 通讯作者: 李宗波, 博士, 教授, 主要从事化学生态学和害虫生态与治理的教学与科研工作, E-mail: lizb@swfu.edu.cn

究影响云南切梢小蠹种群波动和灾变的内在因子,而这与云南切梢小蠹的生殖系统、繁殖行为及其制约因素直接相关。云南切梢小蠹是一夫一妻制 (Monogamy) 的婚配模式,一生仅交配一次 (少数姊妹种例外),可产卵 60~80 粒<sup>[3,5,7]</sup>,考虑到高效的种内信息通讯模式<sup>[8-9]</sup>和独特的隐蔽式生活<sup>[3]</sup>,加之与真菌、细菌以及病毒的协同共生<sup>[5]</sup>,使其能够有效地克服树木的多元抗性,侵入寄主树木取食、繁殖,从而维持其种群密度的相对稳定。当前,在明确云南切梢小蠹卵巢和发育进度的条件下,有必要对其雄性生殖系统的形态、组成及其精子结构进行详细的研究。另外,目前已报道的小蠹亚科昆虫有 6 056 种<sup>[5]</sup>,但仅有山松大小蠹 (*Dendroctonus monticolae*)<sup>[10]</sup>、咖啡果小蠹 (*Hypothenemus hampei*)<sup>[11]</sup>、华山松大小蠹 (*D. armandi*)<sup>[12]</sup>、克里角梢小蠹 (*Trypophloeus klimeschi*)<sup>[13]</sup>和长林小蠹 (*Hylurgus ligniperda*)<sup>[14-15]</sup>、法吉枝小蠹 (*Ernoporus fagi*)和常春藤吻道小蠹 (*Kissophagus hederæ*)<sup>[16]</sup>的雄性生殖系统和精子进行过研究,而不同物种之间又存在着广泛的变异<sup>[14,16]</sup>。如雄虫生殖系统一般由精巢、储精囊、附腺、输精管和射精管组成,但咖啡果小蠹没有附腺<sup>[11]</sup>;再如精子结构,一般包括细胞核、9+9+2 式轴丝和一个似壶嘴状的管胞<sup>[16]</sup>,但华山松大小蠹存在一个特有的海绵体<sup>[12]</sup>。因此,本研究以云南切梢小蠹雄虫为研究对象,应用光学显微镜和透射电镜技术观察雌性内生殖器形态与精子超微结构,以期为深入理解云南切梢小蠹的种群动力与害虫生态调控提供依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试虫的获取与鉴定

根据云南切梢小蠹生活史及其本课题组的林间观察<sup>[3,17]</sup>,于 2021 年 10、12 月和 2022 年 3 月,分别从曲靖市沾益区九龙山林场 (103°7'15" E, 25°0'35" N) 采集嫩梢和树干内的云南切梢小蠹成虫,带回实验室进行分类和性别鉴定<sup>[18]</sup>。按照采集时间段,这些雄虫被分为两类,一类是性器官已开始发育的成虫,包括性成熟者,直接从松梢内剥取;另一类是性器官未发育的雄虫,来自于树干内已经羽化 1 d 的成虫,主要识别特征是淡黄褐色的体色以及鞘翅末端 2/3 处的黑色斑块<sup>[17]</sup>。最后,将

分类好的雄虫暂时放入 4 ℃ 冰箱内保存待用,保存时间不超过 3 d。

### 1.2 雄虫精巢的解剖与形态观察

从冰箱内取出鉴定好的云南切梢小蠹,将其固定于蜡盘内,并置于蔡氏体视镜 (Stereo Discovery V20) 下解剖。解剖时,用镊子沿腹部末端向胸部方向依次撕掉体壁,滴上生理盐水,使其浸泡整个腹部,随后用昆虫针挑动精巢,切断气管和微气管,将整个精巢从腹部拉出,并清理残留在精巢表面的脂肪体和油脂。清理完毕后,将其移至载玻片,并用体视镜对生殖系统各器官的形态、颜色、质地等进行观察和拍照。每个类别每次解剖 10~20 头雄虫。

### 1.3 光学显微镜

为了测定成熟精子的大小,将新解剖出来的储精囊置于 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸缓冲液 (PBS, PH 7.2) 中,并迅速将其移动到一张干净的载玻片上,戳破后使精子流出。接着,用蓝色荧光染料 Hoechst 33258 染色液 (10 ug·mL<sup>-1</sup>) 染色 60 s,经 3 次 PBS 液冲洗后,用盖玻片覆盖。最后,将玻片置于奥林巴斯荧光显微镜 (BX-51) 下,用 340~488 nm 波长进行观察,并使用奥林巴斯 DP72 相机拍照。

### 1.4 透射电子显微镜

挑取性成熟成虫的储精囊,经 PBS 冲液漂洗 5 次后 (20 min·次<sup>-1</sup>),将其保存在 2.5% 多聚甲醛-戊二醛固定液中,室温条件下固定 1.5 h,后经 PBS 漂洗 (5 次, 20 min·次<sup>-1</sup>) 和酒精梯度脱水 (30%、50%、70%、80%、90%, 1 次, 10 min·次<sup>-1</sup>; 无水乙醇, 3 次, 20 min·次<sup>-1</sup>),再进入 3:1、1:1 和 1:3 的乙醇/Epon 812 树脂以及纯 Epon 812 树脂中,依次孵化 2、4、12 和 24 h,最后再置入纯 Epon 812 树脂中,并在 30 和 60 ℃ 烘箱中聚合 24 h。经半薄定位后,用莱卡超薄切片机 (EM UC7) 进行切片,切片厚度约为 70 nm,随后将切片收集在 300 目铜网内,经 2% 醋酸双氧铀 (染色 8 min) 和 4% 柠檬酸铅 (染色 10 min) 双重染色后,用日立透射电子显微镜 (JEM-1400 plus) 对其进行观察和拍照。

### 1.5 形态鉴定与数据分析

参照 Aslam<sup>[15]</sup>、Burrini<sup>[16]</sup> 和 Gao 的<sup>[13]</sup> 的方法,对雄性内生殖系统及其精子结构进行鉴定和描

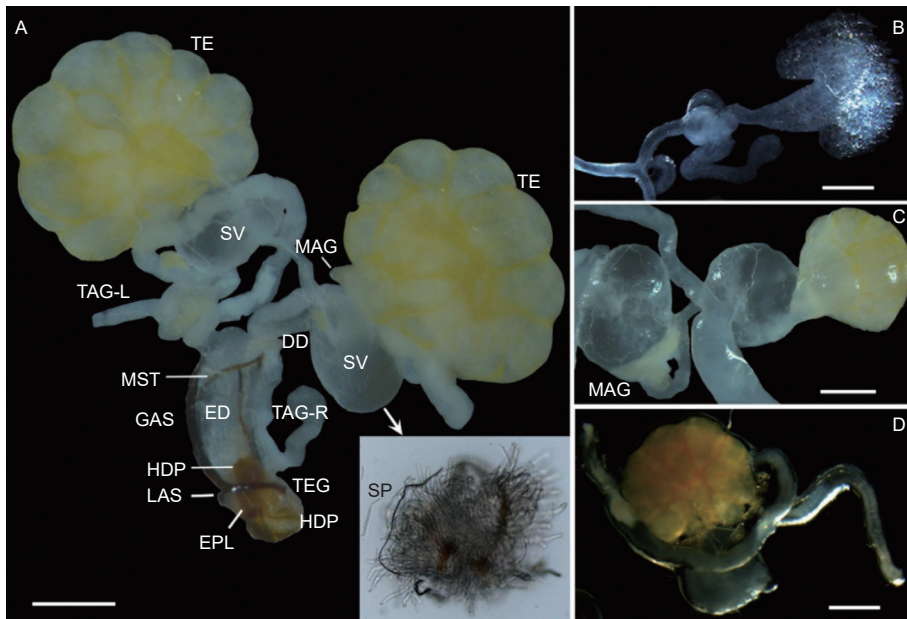
述, 并用图像处理软件 ImageJ (Version 1.57c, <http://imagej.nih.gov/ij>) 测量各器官长、宽、直径等指标, 每一指标重复测定 10~20 次, 并用非参检验 Kruskal-Wallis Test 对比各器官的发育差异性分析, 所有数据分析均在开源平台 Rstudio (R Version 4.2.2, <https://cran.r-project.org/>) 中完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 雄性生殖系统的形态、组成与发育

云南切梢小蠹雄性内生生殖系统位于第 4 腹板下方, 由 1 对精巢 (Testes)、2 对管状附腺 (Tubular accessory glands)、1 对多管状腺体 (Multilobulated accessory glands)、1 对储精囊 (Seminal vesicles)、1 对输精管 (Deferent ducts) 和 1 根射精管 (Ejaculatory duct) 组成,

其中精巢和多管状腺体为椭圆形, 其它器官为长管状; 射精管末端开口于第 8 腹节的末端, 即与外生殖器相连接, 而各器官表面均分布有大量的气管和微气管 (图 1A)。在内生殖器发育过程中 (图 1B~D; 表 1), 新羽化 1 d 的成虫, 即性未发育者, 其精巢及其附腺均为无色透明状, 各管状体体纤细, 几乎不膨大, 未发现精子 (图 1B); 待发育至 10 月, 此时卵巢和多管状腺体的表面呈现淡黄色, 各管状体为乳白色, 管壁明显膨大、增厚, 最典型特征是储精囊内有大量精子存在, 预示着性器官已基本成熟 (图 1A、C), 占比约为总体的 36.7% (N=15); 12 月份时, 最大的变化是精巢和多管状腺体为橘黄色, 储精囊内亦出现大量的精子, 而其它器官仅是略微的膨大 (图 1D), 这些个体占比约为 88.9% (N=45)。



注: A.完整的雄性生殖系统, 注意此时储精囊内可见大量的精子(箭头所示); B.羽化 1 d 后的精巢及附腺; C.10 月的精巢及附腺; D.12 月的精巢及附腺; DD: 输精管; ED: 射精管; EPL: 端片; GSP: 腹针; HDP: 顶饰; LSA: 腹针侧突; MAG: 多管状腺体; MST: 中突; SP: 精子; SV: 储精囊; TAG: 管状附腺; TE: 精巢; TEG: 阳基。比例尺: 200  $\mu\text{m}$

Notes: A. Overall appearance of male reproductive system in October, Note numerous of sperms present in the seminal vesicles (white arrow); B. Teste and its accessory glands at the first day after eclosion in March; C. Teste and its accessory glands in October; D. Teste and its accessory glands in December; DD: deferent ducts; ED: ejaculatory duct; EPL: End plate; GSP: Gastric spiculum; HDP: Headpiece; LAS: Lateral spine; MAG: multilobulated accessory glands; MST: Medial struts; SP: Sperm; SV: seminal vesicles; TAG: tubular accessory glands; TE: Testes; TEG: Tegment. Scar bar: 200  $\mu\text{m}$

图 1 云南切梢小蠹雄性生殖系统及其发育动态

Fig. 1 Male reproductive system and its developmental dynamics in the *Tomicus yunnanensis* adults

### 2.2 精巢结构

每一个精巢均由单层结构的精囊膜 (Scrotal membrane) 包裹, 内部含有 20 根精巢小管

(Testicular tubules), 精巢小管外形呈梨形, 横切面显示其有一个大型的细胞核, 可计数的精子数量为  $403 \pm 20$  个 (图 2), 说明每个精巢小管可

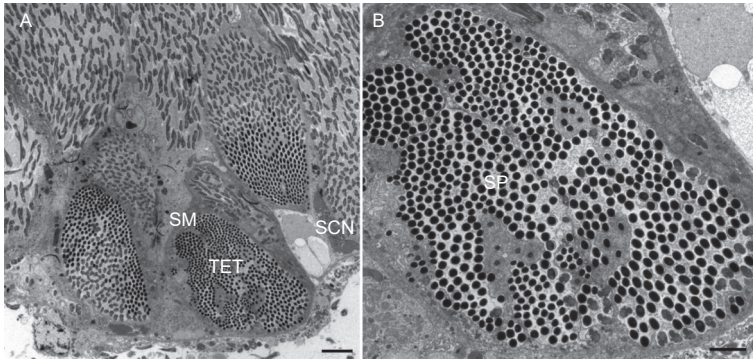
表 1 云南切梢小蠹雄虫的内生殖器组成、形态及发育变化

Table 1 Shape and size of parts of the male genital organs of *Tomticus yunnanensis* adults.

器官 Organ	形态 Shape	3月 March		10月 October		12月 December	
		颜色 Color	长度 Length/um*	颜色 Color	长度 Length/um	颜色 Color	长度 Length/um
精巢 Sperm	椭球形	无色透明	188.6 ± 32.8	淡黄色	227.7 ± 18.6	橘黄色	364.3 ± 86.9
储精囊 Seminal vesicles	椭球形	无色透明	56.6 ± 3.8	乳白色	157.5 ± 13.8	乳白色	192.9 ± 46.0
管状腺体 Multilobulated accessory glands	长管状	无色透明	500.2 ± 54.8	乳白色	584.6 ± 58.8	乳白色	614.5 ± 67.5
多管状腺体 Tubular accessory glands	椭球形	无色透明	51.2 ± 4.0	淡黄色	109.3 ± 14.3	橘黄色	144.1 ± 12.1
输精管 Deferent ducts	长管状	无色透明	125.8 ± 10.8	淡黄色	127.9 ± 7.5	乳白色	126.1 ± 10.7
射精管 Ejaculatory duct	长管状	无色透明	278.5 ± 32.3	淡黄色	309.1 ± 14.7	乳白色	316.5 ± 14.6

注：\*：均值 ± 标准误，椭球形为长径与短径的均值

Notes: \*: Mean ± standard error, ellipsoid shape is the mean of the long and short diameters



注：A:整体；B:单个精巢小管；SCN:精母细胞核；SM:精囊膜；TET:精巢小管.比例尺：A=5 μm；B=2 μm

Notes:A: Overall view of testis; B: A single testicular tubules. SCN: The nucleus of spermatocyst; SM: Scrotal membrane; TET: Testicular tubules. Scale bar: A = 5 μm; B=2 μm

图 2 云南切梢小蠹雄虫精巢的横切面

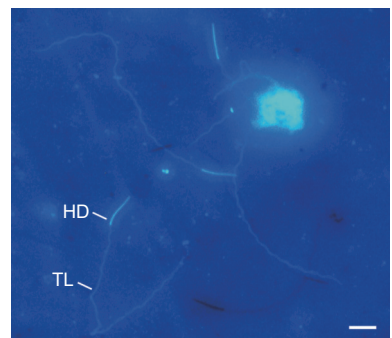
Fig. 2 Transverse section of the testicular tubules in the *Tomticus yunnanensis* adults

育 512 个 ( $2^9$ ) 精细胞。

### 2.3 精子形态与超微结构

成熟精子的外形呈线状，长度为  $170.1 \pm 39.1 \mu\text{m}$  ( $N=16$ )，不聚集成束，呈游离状，包括头部和尾部两部分 (图 1A、图 3)。其中，头部为针状，平均长度  $23.5 \pm 3.4 \mu\text{m}$ ，中部宽  $1.6 \pm 0.4 \mu\text{m}$ ；尾部细长，略微卷曲，末端处突然收缩变细，平均长度为  $127.9 \pm 23.1 \mu\text{m}$ ，中部宽  $1.4 \pm 0.2 \mu\text{m}$ ，占整个长度的 75.2%。

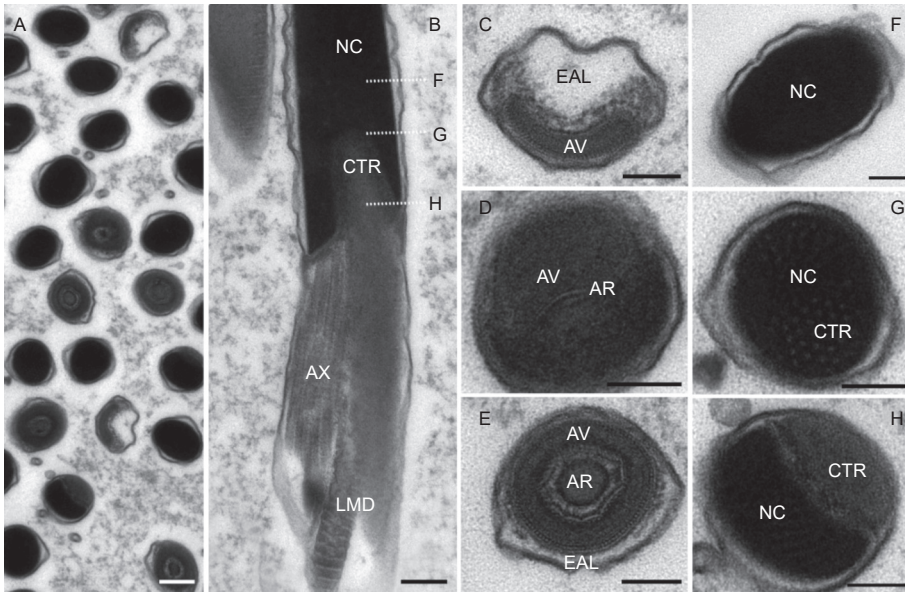
**2.3.1 头部形态与结构** 从超薄切片上看，精子头部可明显区分为顶体复合体和细胞核两部分 (图 4A、B)。顶体复合体外形似一个帽子，长度仅有  $1 \mu\text{m}$ ，由 3 层非均质物质组成：顶体前腔基质、顶体腔和顶体 (图 4C~E)。顶体前腔电子密度非常低，近乎透明状，包裹在顶体腔前端的外



注：HD:头部；TL:尾部

Notes:HD: Head; TL: Tail

图 3 云南切梢小蠹雄虫成熟精子的荧光染色特征  
Fig. 3 Epifluorescent characteristics of mature sperm of *Tomticus yunnanensis* treated with Hoechst 33258



注: A. 头部横切面; B. 细胞核末端的纵切面, 虚线示横切面在图 F、G 和 H 的近似位置; C. 顶体前腔末端横切面; D. 顶体前腔前端横切面; E. 顶体前腔中部横切面; F. 细胞核横切面; G. 中心粒末端横切面; H. 细胞核与中心粒的横切面; AR: 顶体; AV: 顶体腔; AX: 轴丝; CTR: 中心粒; EAL: 顶体前腔基质; LMD: 大线粒体衍生物; NC: 细胞核; 比例尺: A、B = 200 nm; C~H = 100 nm

Notes: A. Transverse section of the sperm head; B. Longitudinal section of the terminals of the nucleus, showing a rough site in F, G, and H; C. Transverse section of the foremost end of vesicle; D. Transverse section of the tip of acrosomal vesicle; E. Transverse section of the mid site of acrosomal vesicle; F. Transverse section of sperm nucleus; G. Transverse section of the anterior end of centriole; H. Transverse section of the nucleus-centriole junction. AR: Axial rod; AV: Acrosomal vesicle; AX: axoneme; CTR: Centriole; EAL: Extra-acrosomal material; LMD: Large mitochondrial derivatives; NC: Nucleus; Scale bar: A, B = 200 nm; C~H = 100 nm

图 4 云南切梢小蠹精子头部的超微结构

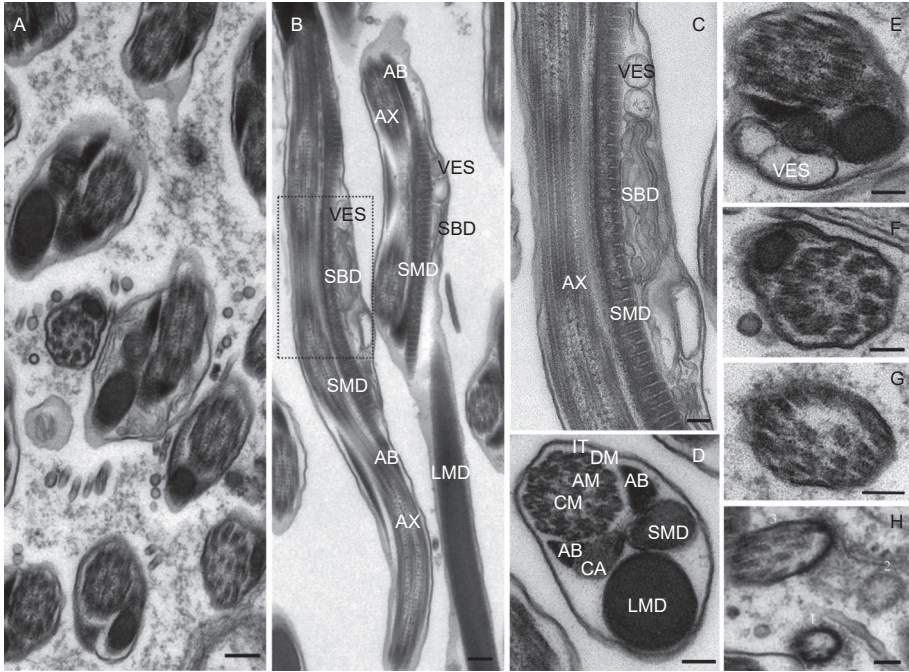
Fig. 4 Ultrastructural images of sperm head in the *Tomicus yunnanensis* adults

延物周围; 顶体腔具有较高的电子密度, 外形为 h-型, 腔内含有一个丝状的顶体; 顶体的电子密度与顶体腔类似, 其直径约为  $77.0 \pm 9.0$  nm, 几乎充满整个顶体腔。

细胞核是电子密度最深的区域, 为圆柱形, 被一层薄的核膜包围, 是头部最长的区域 (约为总长度 95.8%)。在核的前端, 其外形似椭圆形, 与顶体紧密相连, 此处是核半径最大的区域, 约为  $0.77 \pm 0.14$   $\mu\text{m}$ ; 在末端处, 其逐渐变细, 呈现出一个内陷的凹面, 凹面内部含有中心粒, 中心粒末端则以颗粒状嵌入细胞核内, 而其它区域则为同质的电子致密区, 中心粒基部位于大线粒体衍生物和小线粒体衍生物端部之间, 并与轴丝相连接 (图 4B、F~G)。

**2.3.2 尾部形态与结构** 从精子的横切面和纵切面来看 (图 5A、B), 云南切梢小蠹精子尾部由 1 根 9 + 9 + 2 式微管、2 个线粒体衍生物、1 对管胞、1 个海绵体以及 1 个中心体衍生物组成。其中, 微管是由位于远端中心粒的末端发出, 包括位于中心的 2 条平行的中心微管和外围的 9 条纤维组成, 而 9 条纤维又可分为附属微管和微管双联体

两类, 附属微管位于中间, 微管双联体则位于最外围, 并呈双环状环绕中心微管, 各微管的直径相似 ( $18.47 \sim 27.66$  nm,  $p=0.79$ ), 微管与微管之间则以微管连接物加以连接, 进而形成了典型的 9 + 9 + 2 式微管结构 (图 5C、D)。线粒体衍生物则有大线粒体衍生物和小线粒体衍生物之分, 大线粒体衍生物起源于细胞核凹面的顶点处, 直径约为  $0.59 \pm 0.26$   $\mu\text{m}$ ; 小线粒体衍生物则源于轴丝与中心粒后端的顶点处 (图 4B), 直径约为  $0.28 \pm 0.04$   $\mu\text{m}$ , 两者以螺旋形式围绕着轴丝 (图 5B、D), 且大、小线粒体内壁均有发达的嵴, 嵴之间的间距约为 47.6 nm, 预示着两者是精子运动最重要的供能器官。管胞是由一类嗜饿物质组成, 位于轴丝两侧, 且与之大致平行, 外形呈角状或三角形, 而在左侧管胞下方, 则与中心体衍生物相连。中心体衍生物外形类似壶嘴状, 也被称为壶嘴状衍生物 (like-puff expansions), 其构成物质与大、小线粒体衍生物类似 (图 5D)。另外, 在大、小线粒体螺旋交界处, 特别是小线粒体上方, 通常会观察到海绵体和囊泡 (图 5B、C、E)。



注: A. 尾部不同位置的横切面; B. 尾部前端的纵切面, 长方形虚线示 C 图所在位置; C. 各细胞器的纵切面特征; D. 各细胞器的横切面特征; E-H. 分别示右侧管胞、小线粒体衍生物消、大线粒体衍生物、微管的逐渐消失过程, 数字 3-1 示微管连接体、微管双连体和中心微管消失过程; AB: 管胞; AM: 附属微管; AX: 轴丝; CA: 中心体衍生物; CM: 中心微管; DM: 微管双联体; IT: 微管连接物; LMD: 大线粒体衍生物; SBD: 海绵体; SMD: 小线粒体衍生物; VES: 囊泡; 比例尺: A~B=200 nm, C~H = 100 nm

Notes: A. Transverse section of the sperm tail at different position; B. Longitudinal section of the tip of the sperm tail. The black dotted rectangle shows a magnification in the figure C. C. longitudinal section of flagellum organelles; D. Transverse section of the flagellum organelles; E-H. The right accessory body, Small mitochondrial derivatives, Large mitochondrial derivative, and microtubule gradually disappears from the axoneme at the end of sperm tail, respectively. The number 3, 2 and 1 shows that intertubular material, and microtubule doublets, and central microtubule can not be observed at the sperm tail, respectively. AB: accessory body; AM: accessory microtubules; AX: axoneme; CA: centriolar adjunct; CM: central microtubule; DM: microtubule doublets; IT: intertubular material; LMD: Large mitochondrial derivative; SBD: Spongy body; SMD: Small mitochondrial derivative; VES: Vesicle; Scale bar: A~B = 200 nm; C~H = 100 nm

图 5 云南切梢小蠹精子尾部的超微结构

Fig. 5 Ultrastructural images of sperm tail in the *Tomicus yunnanensis* adults

从精子尾部的起点至末尾, 构成尾部的各细胞器均会逐渐减小, 呈不对称状, 主要贡献者是中心体衍生物、大线粒体衍生物以及小线粒体衍生物。另外, 这些细胞器向尾部末端方向则会逐渐消失 (图 5E~H), 如尾部 2/3 处, 小线粒体衍生物会首先消失, 接着是右侧管胞和左侧管胞 (图 5E), 至尾部 3/4 处时, 只剩下大线粒体衍生物 (图 5F); 到达尾部 4/5 处时, 大、小线粒体衍生物和 1 对管胞均消失不见, 而微管连接物也会开始消融 (图 5G); 待到达尾部尾端, 微管双连体首先消失, 接着是附属微管和微管双联体, 直至剩下一层薄薄的核膜 (图 5H)。

### 3 讨论

#### 3.1 云南切梢小蠹内生殖器组成与发育

内生殖器是昆虫孕育和保护雄配子的重要器官<sup>[19]</sup>。

云南切梢小蠹雄性内生殖器由 1 对精巢、2 对管状附腺、1 对多管状腺体、1 对储精囊、1 对输精管和 1 根射精管组成, 整体形态上与鞘翅目多食亚目昆虫较为相似, 但内生殖器组成、位置、数量等方面亦有不同<sup>[14, 20]</sup>。以扁甲系 (Cucujiformia) 昆虫为例: 郭公虫 (*Eurymetopum maculatum*) (郭公虫总科, 郭公虫科) 的每个精巢均有 6 个生精小管, 侧面附腺末端分叉, 且长度明显短于中间附腺, 而 *Isohydnocera aegra* 仅有 1 对附腺, 腺体基部膨胀、延伸<sup>[21]</sup>; 花绒寄甲 (*Dastarcus helophoroides*) (扁甲总科, 穴甲科) 的精巢为狭长的管状, 有 5 对附腺, 1 对来源于中胚层, 4 对源于外胚层, 均为极度延伸的管状腺体<sup>[22]</sup>; 喙尾琵琶甲 (*Blaps rhynchopetera*) (拟步甲总科, 拟步甲科) 的精巢非常发达, 附腺位于两侧精巢的中央处, 且端部向内螺旋弯曲成管状<sup>[23]</sup>, 而黄粉虫

(*Tenebrio molitor*) 则有 1 对管状腺和 1 对豆状腺; 椰心叶甲 (*Brontispa longissima*) (叶甲总科, 铁甲科)、莲草直胸跳甲 (*Agasicles hygrophila*) (叶甲总科, 叶甲科) 以及同属于天牛科的桑天牛 (*Apriona germari*)、云斑白条天牛 (*Batocera lineolata*) 和星天牛 (*Anoplophora chinensis*) 的腺体均为细长管状, 但椰心叶甲的附腺会卷曲成团状, 而不同种类的天牛附腺着生位置明显不同<sup>[24-26]</sup>; 长足大竹象 (*Cyrtotrachelus buqueti*) (象虫总科, 象虫科) 仅有 1 对发达的管状腺, 与输精管一同汇入射精管<sup>[27]</sup>, 林小蠹族 (*Hylurgini*) 的华山松大小蠹<sup>[12]</sup> 和克里角梢小蠹<sup>[13]</sup> 均有 2 对管状腺和 1 对多管状腺 (或称为环腺), 储精囊均位于输精管和多管状腺体之间, 但小蠹族 (*Scolytini*) 的咖啡果小蠹的储精囊位于射精管和附腺之间<sup>[11]</sup>。目前, 在已研究过的扁甲系昆虫中, 其腺体均为管状附腺, 结合已知的附腺功能 (如精液产生、精子成熟、交配栓形成等) 以及本研究观察到云南切梢小蠹附腺上皮细胞基部含有大量的似髓一样的包体 (图 1C), 推测这种腺体可能有助于精子在雌虫生殖腔内存活和成功受精<sup>[19]</sup>。另外, 在光学显微镜下, 也发现性成熟的云南切梢小蠹管状腺能够产生大量的乳白色分泌物, 而多管状腺则是一些透明性物质 (图 1C、D), 这可能暗示这两种腺体的功能有差别, 这特别需要进一步的研究。

作为输精管膨大而形成的囊状结构, 储精囊的形态和位置也有多样性<sup>[14, 19]</sup>。在本文研究中, 云南切梢小蠹储精囊与其它鞘翅目昆虫一样, 均为膨大的球状结构, 左右各 1 个, 外表皮为单层结构, 缺少角质层, 其应起源于中胚层, 这一点与已经证实的华山松大小蠹及其它鞘翅目昆虫类似<sup>[12, 14]</sup>, 但与亲缘关系较远的膜翅目、双翅目和长翅目昆虫明显不同<sup>[28]</sup>。另一方面, 作为临时储存精子的场所, 源于中胚层的特征意味着储精囊没有分泌功能, 但在超薄切片中, 能够观察到一些精子核存在于外表皮中 (图 2A), 说明外表皮具有精子吞噬功能 (Spermiophagic activity)<sup>[19, 29]</sup>, 这种现象也在捻翅目技须捻翅科<sup>[30]</sup>、直翅目蝗科和螽斯科<sup>[31]</sup> 以及膜翅目蜜蜂科<sup>[29]</sup> 的昆虫中发现。但是, 目前并不清楚这种吞噬功能的发生机制和起源, 一些学者认为其在保护精子质量方面有作用<sup>[32]</sup>。

云南切梢小蠹雄虫内生生殖器的发育是一个逐步

成熟的过程, 通常需要取食 3~6 个嫩梢, 耗时 4.5~9 个月<sup>[3, 7]</sup>, 这与本文在 10 月解剖雄虫即发现有 36.7% 的个体储精囊内已有大量精子的结果是一致的 (图 1C)。另一方面, 云南切梢小蠹种群的精巢的发育并不一致, 如 10 月达到性成熟的仅有 36.7%, 12 月会达到 88.9%, 这应该与梢内的蛀食时间、坑道长度、枝梢营养状况、环境温度以及小蠹虫本身发育状况等因素密切相关<sup>[3, 7]</sup>, 特别是环境温度。根据蛀梢习性<sup>[3]</sup>, 云南切梢小蠹主要从 4~6 月出现在繁殖场所附近的林木树冠上, 而此时云南各地区已逐渐进入夏季, 温度相对较高, 是雄性内生殖器官的快速增殖期 (表 1), 达到发育成熟的明显标志就是精巢出现淡黄色, 最重要就是储精囊内可见到成熟的精子。李丽莎等<sup>[33]</sup> 报道云南切梢小蠹可在 3 月份蛀入树干, 但基于本研究对云南切梢小蠹精巢发育进度的观察, 此时精巢不具备产生精子的能力, 这很可能是其躲避低温而做出的一种行为适应性机制。另外, 云南切梢小蠹性成熟的发育进程与雌虫是高度一致的, 且同样受到低温胁迫的影响<sup>[7]</sup>, 即在性成熟后仍会在树梢内蛀食, 随蛀食时间的延长, 其精巢和储精囊会进一步膨胀, 说明这会提高它的繁殖适合度<sup>[34]</sup>, 待出现冬季低温时, 雌、雄虫即会开始蛀干。因此, 下一步利用雌、雄虫生殖系统发育的一致性, 结合不同地区环境温度进行云南切梢小蠹种群的预测预报, 将有利于“整合”而形成区域特色的害虫管理生态工程<sup>[1, 2, 5]</sup>。

### 3.2 云南切梢小蠹精子形态与结构

对于鞘翅目昆虫来说, 位于进化树基部的物种通常比位于端部的物种能够产生更多的精子数, 通常每个生精小管可产生精子数量为 16~512 (即  $2^4 \sim 2^9$ ) 个, 多数情况为 256 个<sup>[19-20, 35]</sup>。如跳甲科中的最原始物种 *Forsterita* sp. 产生 256 个, 最进化的 *Oedionychina* 亚族仅有 16 个, 而其它物种可见到 32 个、64 个以及 128 个<sup>[36]</sup>; 象虫科的玉米象 (*Sitophilus zeamais*) 和米象 (*S. Oryzae*) 均为 256 个, 而棉铃象甲 (*Anthonomus grandis*) 却高达 512~797 个<sup>[37]</sup>。在本研究中, 云南切梢小蠹每个生精小管可产生 512 ( $2^9$ ) 个精子, 反映了云南切梢小蠹是鞘翅目昆虫中较为原始的, 这与小蠹亚科昆虫, 如华山松大小蠹、克里角梢小蠹、法吉枝小蠹、常春藤吻道小蠹等保持一致<sup>[12-13, 16]</sup>。作

为一个生殖细胞,昆虫精子在长度、形态、卷曲、簇状、包被等方面具有广泛的多样性,这与异配生殖起源(Isogamous origin)有关<sup>[19]</sup>。当前,已有 70 多种鞘翅目昆虫的精子被研究过,发现摩耶山步甲(*Carabus maiyasanus shigaraki*)精子最短,仅有 67  $\mu\text{m}$ <sup>[19]</sup>,而双斑郭公虫(*Divalles bipustulatus*)精子最长,达到了 10 000  $\mu\text{m}$ <sup>[38]</sup>。对于云南切梢小蠹,其精子长度为 170.1  $\mu\text{m}$ ,应归属于较短类型的精子,但也明显长于华山松大小蠹(85  $\pm$  11.3  $\mu\text{m}$ )和克里角梢小蠹(76.7  $\pm$  1.8  $\mu\text{m}$ )。根据 Jamieson<sup>[20]</sup>的发现:昆虫精子具有高度的种间特有多多样性(Species-specific diversity),考虑到小蠹虫隐蔽性的生活方式及其婚配模式,说明较短的精子可能有利于其求偶和受精成功<sup>[19-20]</sup>。

在精子结构方面,云南切梢小蠹精子与多数象虫科昆虫相似<sup>[10-13, 16, 19, 39]</sup>,包括:1) 3 层的顶体复合体;2) 两个等大的管胞;3) 类似壶嘴状的管胞;4) 两个大小不等、充满晶体的线粒体衍生物;5) 典型的 9 + 9 + 2 式轴丝,但也有其独特特征,如云南切梢小蠹的顶体前腔基质不明显、单一的中心粒以及精子尾部线粒体衍生物过渡处的海绵体和囊泡。一般认为,顶体的主要功能在于受精过程中发生形态与生理变化,进而获得动能,使精子能够顺利穿过卵子的放射冠、透明带等接近卵膜,到达卵的细胞质后完成精子与卵子的融合<sup>[40]</sup>。但云南切梢小蠹的顶体复合体非常短,特别是顶体前腔基质仅为一层薄的透明状物质,这可能会影响精子的获能能力,从而影响受精率<sup>[11]</sup>。当然,较短的精子长度可能会减少这种负面效应。云南切梢小蠹的顶体为丝状的亚结构,这一点与布鲁缨甲(*Bumburu brunnea*)较为类似,可能在精子与卵子相遇和受精过程中起到骨架的功能<sup>[41]</sup>,而顶体腔为“h-型”,与法吉枝小蠹和常春藤吻道小蠹的锥体型差别较大<sup>[16]</sup>,但与亲缘较近的克里角梢小蠹和华山松大小蠹相似,说明顶体腔可作为推断系统发育的一个参考指标<sup>[12-13, 19-20, 42]</sup>。Baccetti 认为管胞具有 ATP 酶和 UTP 酶活性,这与云南切梢小蠹由高密度的嗜碱性物质组成的特性相一致,可能有益于维持精子的运动<sup>[42]</sup>。另外,类似壶嘴状的中心体延伸物是象虫科昆虫典型特征,也存在于叶甲科昆虫中<sup>[43]</sup>,Name<sup>[39]</sup>认为这种囊泡状膨胀物是鞘翅目昆虫精子的特有结构,在维持鞭毛稳定性方面具有

作用。线粒体衍生物是精子尾部最显著的特征,无论是大线粒体衍生物还是小线粒体衍生物,其内部均充满不透明的晶体和嵴,嵴的方向垂直于线粒体的纵轴而平行排列(图 5C),大、小线粒体衍生物以螺旋形式围绕着轴丝,但小线粒体衍生物延伸至尾部末端后,即会逐渐消失,但在一些叶甲科昆虫中,尾部线粒体衍生物则是大小一致,且呈对称分布<sup>[43]</sup>。嵴结构是与能量代谢直接相关的,能够进一步转化形成类晶体,这类晶体普遍发现于大、小线粒体衍生物中,特别是大线粒体衍生物中最为明显,这可能赋予精子一定的弹性,有利于精子的机械运动<sup>[44-45]</sup>。此外,从前端至末尾的连续切片来看,云南切梢小蠹精子尾部各细胞器逐渐消失,依次是管胞、小线粒体衍生物、大线粒体衍生物以及轴丝的不同微管,且消失过程中会有大量的囊泡填补这些空缺,显示出精子末端的机械运动是一种被动的、无规律的震颤形式。海绵体是另一个特别需要关注的特征,它仅在精子发育末期和成熟精子中有观察到,且主要位于精子尾部前端 2/3 处的位置,这与华山松大小蠹仅位于顶点<sup>[12]</sup>、甜果蠹(*Carpoglyphus lactis*)<sup>[46]</sup>的膜状聚集成束以及元塞蚤蠨(*Galloisiana yuasai*)<sup>[47]</sup>的膜质囊等差别较大。根据海绵体的着生位置,Miller<sup>[48]</sup>认为它是头部与尾部的分割点(Tail separation),即尾部的开始位置。但海绵体分布于云南切梢小蠹尾部的大部分区域,且会向外膨胀形成“凸点”,说明海绵体不应作为一种分割标识,而具有缓冲精子机械运动、保护精子的功能<sup>[19, 45]</sup>。

## 4 结论

(1) 云南切梢小蠹雄性内生殖器由 1 对精巢、2 对管状附腺、1 对多管状腺体、1 对储精囊、1 对输精管和 1 根射精管组成,与象虫科小蠹亚科昆虫较为类似,但多管状附腺的形态与位置存在种间差异;可以以精巢和多管状腺体呈淡黄色作为云南切梢小蠹性成熟的判断标准,特别是储精囊内出现精子。

(2) 云南切梢小蠹的精子为线状,长 170.1  $\pm$  39.1  $\mu\text{m}$ ,分为头部和尾部两部分,其中头部包括 1 个 3 层的顶体复合体和 1 个圆柱状的细胞核,尾部由 2 个大小不等的线粒体衍生物、2 个似壶嘴状的管胞和 1 个典型的 9 + 9 + 2 式轴丝组成,各细



胞器的形态高度分化, 且管胞、小线粒体衍生物、管胞、大线粒体衍生物由前向后逐渐消失, 可为研究小蠹亚科与象虫科的系统发育提供参考依据。

## 参考文献:

- [1] 戈 峰. 害虫管理: 从“综合”到“整合”[J]. 应用昆虫学报, 2020, 57(1): 1-9.
- [2] 张 弘, 陈兰荪. 种群动力学与害虫治理[J]. 科学观察, 2012, 7(6): 52-53.
- [3] 叶辉. 云南切梢小蠹[M]. 昆明: 云南科技出版社, 2011.
- [4] YU L, HUANG J, ZONG S, *et al.* Detecting shoot beetle damage on Yunnan pine using landsat time-series data[J]. *Forests*, 2018, 9(1): 39.
- [5] VEGA F E, HOFSTETTER R W. Bark beetles: Biology and ecology of native and invasive species[M]. San Diego: Academic Press, 2015.
- [6] LIU F, WU C, ZHANG S, *et al.* Initial location preference together with aggregation pheromones regulate the attack pattern of *Tomicus brevipilosus* (Coleoptera: Curculionidae) on *Pinus kesiya*[J]. *Forests*, 2019, 10(2): 156.
- [7] 刘金林, 赵 宁, 杨 斌, 等. 云南切梢小蠹雌成虫卵巢发育程度的分级研究[J]. 林业科学研究, 2019, 32(1): 74-80.
- [8] RAFFA K F, ANDERSSON M N, SCHLYTER F. Host selection by bark beetles: Playing the odds in a high-stakes game[M]. London: Academic Press, 2016:1-74.
- [9] WU C X, LIU F, ZHANG S F, *et al.* Semiochemical regulation of the intraspecific and interspecific behavior of *Tomicus yunnanensis* and *Tomicus minor* during the shoot-feeding phase[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2019, 45(3): 227-240.
- [10] CEREZKE H F. The morphology and functions of the reproductive systems of *Dendroctonus monticolae* Hopk. (Coleoptera: Scolytidae)[J]. *The Canadian Entomologist*, 1964, 96(3): 477-500.
- [11] RUBIE G J D, BUSTILLO P A E, VALLEJO E L F, *et al.* Alimentary canal and reproductive tract of *Hypothenemus hampei* (Ferrari) (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae)[J]. *Neotropical Entomology*, 2008, 37(2): 143-151.
- [12] WU Y F, WEI L S, TORRES M A, *et al.* Morphology of the male reproductive system and spermiogenesis of *Dendroctonus armandi* Tsai and Li (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)[J]. *Journal of Insect Science*, 2017, 17(1): 1-9.
- [13] GAO J, GAO G, WANG J, *et al.* The sperm structure and spermatogenesis of *Trypophloeus klimeschi* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)[J]. *Biology*, 2021, 10(7): 583.
- [14] CALDER A A. Gross morphology of the soft parts of the male and female reproductive systems of Curculionoidea (Coleoptera)[J]. *Journal of Natural History*, 1990, 24(2): 453-505.
- [15] ASLAM N A. An assessment of some internal characters in the higher classification of the *Curculionidae* s. L. (Coleoptera)[J]. *Transactions of the Royal Entomological Society of London*, 1961, 113(14): 417-480.
- [16] BURRINI A G, MAGNANO L, MAGNANO A R, *et al.* Spermatozoa and phylogeny of Curculionoidea (Coleoptera)[J]. *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 1988, 17(1): 1-50.
- [17] 钱路兵, 张梦蝶, 刘金林, 等. 川滇桉木气味活性物质对云南切梢小蠹胚后发育的影响[J]. 西南林业大学学报(自然科学版), 2023, 43(3): 96-102.
- [18] 李 霞, 张 真, 曹 鹏, 等. 切梢小蠹属昆虫分类鉴定方法[J]. 林业科学, 2012, 48(2): 110-116.
- [19] BIRKHEAD T R, HOSKEN D J, PITNICK S S. Sperm biology: an evolutionary perspective[M]. London: Elsevier, 2009.
- [20] JAMIESON B G. The ultrastructure and phylogeny of insect spermatozoa[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1987.
- [21] OPITZ W. Morphologic studies of the alimentary canal and internal reproductive organs of the Chaetosomatidae and the Cleridae (Coleoptera: Cleroidea) with comparative morphology and taxonomic analyses[J]. *Insecta Mundi*, 2014, 0342: 1-40.
- [22] 苏建明. 花绒寄甲生殖系统解剖结构研究(鞘翅目: 穴甲科) [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2012.
- [23] 冀焕红. 喙尾喙甲生殖生物学与食性研究 [D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2010.
- [24] 金 涛, 冯所洲, 金启安, 等. 椰心叶甲的生殖系统与繁殖力研究[J]. 应用昆虫学报, 2013, 50(5): 1280-1288.
- [25] DEVASAHAYAM S, VIDYASAGAR P, KOYA K. Reproductive system of *pollu* beetle, *Longitarsus nigripennis* Motschulsky (Coleoptera: Chrysomelidae), a major pest of black pepper, *Piper nigrum* Linnaeus[J]. *Journal of Entomological Research*, 1998, 22(1): 77-82.
- [26] 高洁. 桑天牛, 云斑白条天牛, 星天牛雄性附腺内容物研究 [D]. 南京: 南京林业大学, 2008.
- [27] 汪淑芳, 杨瑶君, 刘 超, 等. 长足大竹象生殖系统的形态解剖研究[J]. 四川动物, 2009, 28(1): 79-81.
- [28] CHAPMAN R F. The insects: structure and function (5th edition)[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2013.
- [29] ARAÚ JO V A, ZAMA U, NEVES C A, *et al.* Ultrastructural, histological and histochemical characteristics of the epithelial wall of the seminal vesicle of mature *Scaptotrigona xanthotricha* Moure males (Hymenoptera, Apidae, Meliponini)[J]. *Brazilian Journal of Morphological Sciences*, 2005, 22(44): 193-201.
- [30] CARCUPINO M, KATHIRITHAMBY J, MAZZINI M. Testis morphology and spermatogenesis in two species of *Elenchus* (Strepsiptera: Elenchidae)[J]. *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 1998, 27(1): 9-19.
- [31] VISCUSO R, BRUNDO M V, MARLETTA A, *et al.* Fine structure of male genital tracts of some Acrididae and Tettigoniidae

- (Insecta: Orthoptera)[J]. *Acta Zoologica*, 2015, 96(4): 418-427.
- [32] MOSSADEGH-KELLER N, GENTEK R, GIMENEZ G, *et al.* Developmental origin and maintenance of distinct testicular macrophage populations[J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2017, 214(10): 2829-2841.
- [33] 李丽莎, 王海林, 柴秀山, 等. 云南松纵坑切梢小蠹危害及生物学特性研究[J]. *云南林业科技*, 1997, 79(2): 1-7.
- [34] KANT R, TREWICK S A, SANDANAYAKA W R M, *et al.* Effects of multiple matings on reproductive fitness of male and female *Diaeretiella rapae*[J]. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2012, 145(3): 215-221.
- [35] JUREČIĆ R. Sperm cell number per bundle in *Gnorimus nobilis* L. (Coleoptera, Scarabaeidae)[J]. *Genetica*, 1988, 76(1): 27-31.
- [36] VIRKKI N. Sperm bundles and phylogenesis[J]. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie*, 1969, 101(1): 13-27.
- [37] GASSNER G, CHILDRESS D, KLEMETSON D J. Spermiogenesis in boll weevil, *Anthonomus grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae)[J]. *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 1975, 4(2): 115-125.
- [38] MAZZINI M. Giant spermatozoa in *Divales bipustulatus* F. (Coleoptera: Cleridae)[J]. *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 1976, 5(2): 107-115.
- [39] NAME K P O, DOS REIS G P F, BÁO S N. An ultrastructural study of spermiogenesis in two species of *Sitophilus* (Coleoptera: Curculionidae)[J]. *Biocell*, 2007, 31(2): 229-236.
- [40] OKABE M. The acrosome reaction: A historical perspective[M]. Cham: Springer International Publishing, 2016.
- [41] DYBAS L K, DYBAS H S. Ultrastructure of mature spermatozoa of a minute featherwing beetle from Sri Lanka (Coleoptera, Ptiliidae: Bambara)[J]. *Journal of Morphology*, 1987, 191(1): 63-76.
- [42] BACCETTI B. Insect sperm cells[J]. *Advances in Insect Physiology*, 1972, 9: 315-397.
- [43] BACCETTI B, DACCORDI M. Sperm structure and phylogeny of the Chrysomelidae[M]. Dordrecht: Springer Netherlands, 1988.
- [44] BACCETTI B, DALLAI R, PALLINI V, *et al.* Protein of insect sperm mitochondrial crystals. Crystallomitin[J]. *Journal of Cell Biology*, 1977, 73(3): 594-600.
- [45] WERNER M, SIMMONS L W. Insect sperm motility[J]. *Biological Reviews*, 2008, 83(2): 191-208.
- [46] FLOREK M, WITALIŃSKI W. Spermatogenesis and sperm structure in *Carpoglyphus lactis* (L.) (Acari: Astigmata)[J]. *Arthropod Structure & Development*, 2010, 39(1): 41-51.
- [47] DALLAI R, MACHIDE R, UCHIFUNE T, *et al.* The sperm structure of *Galloisiana yuasai* (Insecta, Grylloblattodea) and implications for the phylogenetic position of Grylloblattodea[J]. *Zoomorphology*, 2005, 124(4): 205-212.
- [48] MILLER D L, DOUGERTY M M, DECKER S J, *et al.* Ultrastructure of the spermatozoa from a Florida manatee (*Trichechus manatus latirostris*)[J]. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 2001, 30(4): 253-256.

# Male Reproductive System and Sperm Ultrastructure of the Yunnan Pine Shoot Beetle, *Tomicus yunnanensis* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae)

LU Guo-yan, ZHANG Meng-die, ZHANG Yan-lin, YANG Bin, LI Zong-bo

(Key Laboratory of Forest Disaster Warning and Control in Yunnan Province, College of Biodiversity Conservation and Utilization, Southwest Forestry University, Kunming 650224, Yunnan, China)

**Abstract:** [Objective] Insect reproduction is of vast significance in population processing for the growths and declines in natural or management habitats. Based on the theoretical and practical implications of pest population management, it is essential to gain the male reproductive system and sperm structure of *Tomicus yunnanensis* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae), which are the most damaged insects in the Yunnan pine forest in southwest China. [Method] The male genital system and sperms from newly emerged adults (sexual immaturity) and the precocity of trunk-boring attacks (sexual maturity) of this species are examined structurally using light and transmission electron microscopy. [Result] The male genital system contains a pair of testes, two twins of tubular accessory glands, a couple of multilobulated accessory glands and seminal vesicles, and deferent ducts connected with a single ejaculatory duct. After sexual immaturity, all genital cysts were only thin transparent tubules, which were milky and gradually thicker after sexual maturity. However, there was orange for the testes and multilobulated accessory glands. Mature sperms were numerous in seminal vesicles currently. Each sperm was filiform in shape,  $170.1 \pm 39.1 \mu\text{m}$  in length, and consisted of the head and flagellum. The head was needle-like, with  $23.5 \pm 3.4 \mu\text{m}$  in length, and comprised a three-layer acrosomal complex and an inferior cylindrical nucleus. The long flagellum included two mitochondrial derivatives of different sizes, two accessory bodies with a sizeable puff-like expansion, and a classical  $9 + 9 + 2$  axoneme microtubule pattern. More importantly, the sperm tail showed a high degree of differentiation in the shape of the asymmetrical organelles. Some tail organelles, including puff-like expansion, minor mitochondrial derivatives, accessory bodies, and major mitochondrial derivatives, would gradually disappear toward the end of the sperm. [Conclusion] . The overall genital characteristics and sperm ultrastructure of the male adults of *T. yunnanensis* are like those of Curculionidae, which conserve the primitive characters such as three-layer acrosomal complex,  $9 + 9 + 2$  axoneme and high differentiation of asymmetrical tail organelles. Current results not only enrich the taxonomic and phylogenetic studies of the subfamily Scolytinae, but also help us further understand the physiological attributes in insemination specificity of *Tomicus yunnanensis*.

**Keywords:** Insect reproduction; *Tomicus yunnanensis*; Testes; Sperm ultrastructure; Electron microscopy

(责任编辑: 崔 贝)