

Lås-och-nyckel systemen i de inre genitalierna av Noctuidae (Lepidoptera) som taxonomiska kännetecken

J.D. LAFONTAINE & KAURI MIKKOLA

Lafontaine, J.D. & Mikkola, K.: Lock-and-key systems in the inner genitalia of Noctuidae (Lepidoptera) as a taxonomic character. Ent. Meddr 55: 161-167. Copenhagen, Denmark, 1987. ISSN 0013-8851.

Complicated lock-and-key systems are reported to work in the inner genitalia of Noctuidae. These ensure that the conspecific male is the only one which is able to deposit the spermatophore in the female genitalia in such a way that the sperm transfer can proceed. The sequence of events can be classified as follows: 1. Steering and stopping: the juxta, the tip of aedeagus and the proximal part of vesica interact with the lamella antevaginalis, the ductus bursae and the posterior end of the corpus bursae. 2. Locking: the tip of the aedeagus and the proximal half of the vesica interact with the anterior part of the ductus bursae and the posterior third of the corpus. 3. Deposition of the spermatophore so that its caudal (frenum) opening is against the opening of ductus seminalis: distal part of the vesica/corpus and appendix (cervix) bursae. The vesica and appendix are often expanded or coiled in a similar way, forming an additional lock-and-key system.

Some improvements in the technique for everting vesicas are proposed and a technique for extending the female bursas is reported. Two examples are given of the taxonomic significance of lock-and-key systems. The study shows that the distinctive characters of vesicas do not remain subjective if the corresponding differences are found in the females.

J.D. Lafontaine, Biosystematics Research Center, Ottawa, Ontario K1A 0C6, Canada. K. Mikkola, Department of Zoology, University of Helsinki, P. Rautatiekatu 13, SF-000100 Helsinki, Finland.

Introduktion

Det är ofördelaktigt för en art att korsa sig med en närstående art. Detta förhindras på olika sätt i olika djurgrupper. Hos fjärilarna är det inte enbart geografiska omständigheter, biotoper, flygtid eller dylikt som fungerar som isolerande faktorer, tydligen för att fjärilarna har så väl utvecklad spridningsförmåga. Vid sidan av genetiska, fysiologiska och kemiska mekanismer finns det i fjärilarnas genitalier anatomiska lås-och-nyckel system, som först nyligen upptäckts.

Zeller (1855) och Lederer (1857) förefaller att ha varit de första, som beskrev och avbildade fjärilars hangenitalier. Mera förståelse för genitaliers funktion gav Cholodkowsky

(1886), Petersens (1904, 1907) och Pierces (1909) studier. Dock måste man notera, att sådana framstående lepidopterologer som O. Staudinger på senare hälften av 1800-talet och G.F. Hampson och R. Püngeler samt A. och O. Bang-Haas under detta sekel tydligen inte alls använde genitalier som taxonomiska kännetecken. Även grova missförstånd över arters taxonomiska ställning var möjliga, men det är ändå förvånande hur skarpt de kunde bedöma sådana frågor utan den hjälp vi nu har.

Från och med sekelskiftet började man tänka att de invecklade kitinstrukturerna i de yttre hangenitalierna samverkar med honans motsvarande delar för att förhindra non-konspicifika parningar. Först på 1960-

och 1970-talen började man förstå att det inte är så (Alexander 1964: 91, Rentz 1972). Bl. a. har man ganska ofta iakttagit parningar mellan långt från varandra stående arter (jfr. redan Reuter (1880)). I stället antog man, att det är beteendemönster samt genetiska, fysiologiska och kemiska mekanismer, som förhindrar artkorsningarna.

Den här utvecklingen ledde till att man inte alls har accepterat lås-och-nyckel systemen hos Lepidoptera. Dock påvisade redan Petersen (1907), att öppningen av den hantliga spermatoforen, sedan denna överförs i honans genitalier, måste passa ihop med öppningen av ductus seminalis hos honan. Mötespunkten har nämligen rört sig hos olika grupper från sinus vaginalis genom ductus bursae till olika delar av bursan (jfr. också Stekolnikov (1965)).

I Kanada har det först uppstått en tradition att vända ut vesican från aedeagus (J. McDunnough) och senare att blåsa den ut med alkohol så att den fixeras i sin nära maximala storlek (Hardwick 1950, 1965, 1970). Dock har man i Sydafrika redan för årtionden sedan blåst ut vesicor av *Cucullia*-arter (L. Ronkay, oral comm.). Detta har också gjorts sedan länge av P. Grotenfelt i Finland och av S. Överby i Sverige, men metoden har inte kommit i allmänt bruk.

Först relativt nyligen har man börjat förstå att det uppstår problem, om arter med icke-motsvarande delar försöker para sig (Hardwick 1965, Byers & Hinks 1978). Parningens mekanism har beskrivits för flera fjärilsarter, och här är Callahans och Chapins (1960) arbete speciellt viktigt. Under vårt pågående revisionsarbete av den holarktiska noctuidfaunan har vi lyckats kombinera hanens aedeagus- och vesica-kännetecken med den motsvarande anatomien hos honan, vilket på betydande sätt säkrar tolkningen av kritiska artfrågor.

Nedan beskriver vi i korthet a) hur vesican blåses ut, b) hur vesican fungerar i att flytta spermatoforen i hongenitalierna (främst på basen av Callahan & Chapin (1960)), c) hur vesican i två olika fall samverkar med hongenitalierna, och d) huruda-

na taxonomiska kännetecken de inre genitalierna bjuder.

Material och metoder

Tekniken att blåsa ut vesican har beskrivits av Hardwick (1950, 1970). Vi gör några förbättringar till hans teknik och beskriver också hur hongenitalierna skall utvidgas. Vi antar att läsaren känner den allmänna tekniken i att göra genitaliepreparat (jfr. Fig. 1).

1. Aedeagus skiljes normalt från de andra genitalierna och från juxtan. Prepareringen görs i 30-40% alkohol för att minska vattnets ytspänning. Också gamla preparat kan uppmjukas i KOH och vesican eller bursan blåsas, som det berättas nedan.

2. Ductus ejaculatorius, som vanligtvis löper in i aedeagus på dess dorsal(rygg-)sida, klipps av nära aedeagus. Genom öppningen som uppstår skuffas vesican mot den andra ändan av aedeagus med en trubbig nål, tråd eller hår så, att den står just i öppningen av aedeagus, men hellst inte utanför den. Om det finns större cornuti eller stora grupper av smärre cornuti, skall dessa dock trängas delvis ut så att de inte punkterar vesican eller hindrar dess utvändning.

3. En injektionsspruta med en nål av storleken 27, 30 eller 33 (nålen skall fylla aedeagus så fullständigt som möjligt) fylles med absolutiserad eller i alla fall vattenfri alkohol. Nålen förs in i aedeagus genom öppningen av ductus ejaculatorius.

4. Aedeagus och nålen innanför den nypes fast med en pincett så att alkoholen inte sprutas bakåt i aedeagus. Det hela hålls under mikroskop och ovanför en liten skål med alkohol i. Då sprutas man plötsligt starkt. Vesican vänds vanligtvis ut på ett ögonblick, och alkoholen sprutas genom den. Sprutan tömmes genom vesican, och sedan låter man vesican falla i alkoholen nedanför. Om vesican inte kom ordentligt

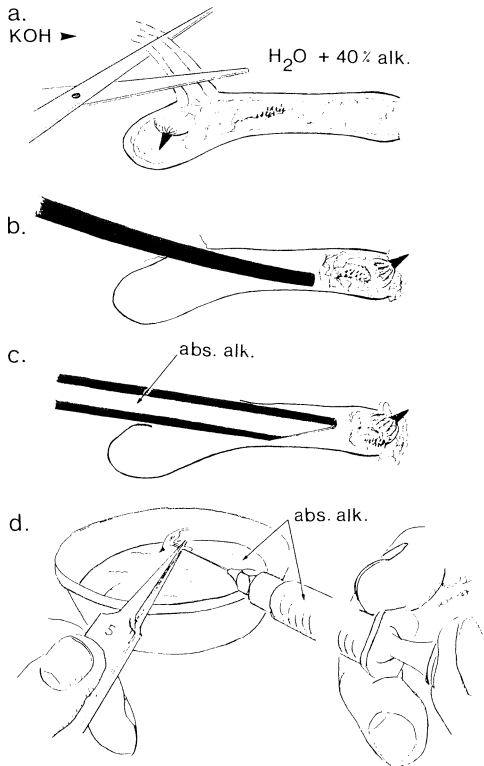


Fig. 1. a. Ductus ejaculatorius klipps av. b. Vesican skuffas till den yttre ändan av aedeagus. c. Injektionsnålen förs in i aedeagus. d. Vesican blåses ut ovanför en skål med alkohol i.

ut, kan man sätta den igen i KOH för att senare blåsas på nytt. De svåraste långa vesicor med många cornuti kan först blåsas ut med KOH, och efter att de ha legat någon tid i vatten, kan man blåsa dem med alkohol.

5. Honans bursa behandlas på liknande sätt: Nålen föres in genom ostium bursae, så djupt in i ductus bursae att man får ett ordentligt tag med pincetten över ductus och nålen. Bursan blåses försiktigt, för utgången (ductus seminalis) är mycket smal och bursan punkteras lätt.

6. Den utspända vesican eller bursan, som är fixerat av alkoholen, överföres därefter i

Euparal-essans och först därefter i Euparal på objektglaset. Därigenom kan man i stort sätt förhindra skrynklandet av preparatet och också håller Eosin-färgämnet bättre för att det inte löser sig i essansen. På objektglaset orienteras bursan så, att analpapillerna står i riktningen av kl. 12, och bukplåten samt ostium bursae uppåt mot åskådaren. Då skall vesican, för att senare kunna jämföras med bursan i rätt ställning, placeras så, att aedeagus är riktad mot kl. 12 och öppningen av ductus ejaculatorius nedåt, dvs. bort från åskådaren. För att genitalierna inte skall pressas ihop av täckglaset, sätter man under glasets kanter plaststycken, som man skär från ett genomskinligt plaströr.

7. När preparaten är torra, sätter man aedeagus och vesican över hongenitalierna, noggrant ovanpå för att jämföra proportioner och litet åt sidan för att se olika detaljer.

Vesicans funktion

Vesicans huvudfunktion är att flytta spermatoforen som innehåller själva sperman på rätt plats i honans genitalier, så att sperman transporteras vidare. Detta betyder att spermatoforens frenum-ända (den som kommer sist ut från vesican) skall komma mot öppningen av ductus seminalis hos honan (Proshold et al. 1975). Om sperman hamnar fritt i bursan, kommer den troligen inte att transporteras vidare, och det blir ingen avkomma från parningen.

Den fungerande vesican har en dubbel byggnad: efterhand som vesican kommer ut från aedeagus, kommer ductus ejaculatorius att tränga in i vesican genom öppningen på aedeagus' dorsala sida. För att denna kontakt klipps av vid prepareringen, sker blåsningen av vesican på annat sätt än i naturen. I naturligt läge är ju spermatoforen innerst i det hela, innanför ductus ejaculatorius. Spermatoforen flyttas vidare på följande sätt:

1. Särskilt före aedeagus har väggarna av ductus ejaculatorius välutvecklade muskler.
2. Det kommer en trakéstam dorsalt in i

bakre ändan av aedeagus, och därifrån fortsätter specialiserade ogrenade trakéer vidare längs vesicas inre vägg. Eftersom trakéer innehåller luft, är lufttrycket troligen den viktigaste kraften vid vesicans utvänding.

3. Det finns ofta längsriktade tand- eller taggrader i spiral på vesicans yttre vägg. Taggarna har muskler. De riktas först inåt och hjälper i transporten av spermatoforen. När taggarna vänds ut, då hjälper vesican att

hållas på sin plats, när den förskjutas framåt i bursan. Taggarna och cornuti har uppenbarligen också funktionen att stimulera honan.

Vesican har ofta ett komplicerat beteendemönster i att flytta ut spermatoforen och detta återspeglas i bursans form. Om bursan är förgrenad, gäller detta oftast också vesican, men den anatomiska motsvarigheten kan vara ganska begränsad.

Två exempel

Nedan jämföres lås-och-nyckel kännetecknen inom han- och hongenitalierna (ovanför varandra) med de motsvarande kännetecknen hos en närstående art (på spalten bredvid). Bara de mest iögonfallande kännetecknen omnämns. De motsvarande kännetecknen på samma rad är angivna med successiva nummer, och under hanens kännetecken kommer honans motsvarande lås-och-nyckel kännetecken angivet med samma nummer. Samma nummer används därtill i genitaleritningarna. m = hane och f = hona.

1. *Apamea verbascoidea* (Guenée, 1852)/*A. inebriata* Ferguson, 1977 (Fig. 2)

De här två nordamerikanska arterna är till utseendet mycket nära varandra, och den senare arten blev beskriven först för tio år sedan (Ferguson 1977).

<i>A. verbascoidea</i>	<i>A. inebriata</i>
m1. Vesicans tvärstående del genast efter aedeagus	m2. Mellan aedeagus och vesicans tvärstående del en längsriktad vesicadel
f1. Ductus bursae kort	f2. Ductus bursae längre
m3. På basen av vesican två stora cornuti på vänstra sidan (till höger i bilden) som båda pekar åt vänster	m4. På ventrala sidan av vesican två stora cornuti pekande i olika riktningar
f3. Främst i ductus bursae två längsriktade, parallela korta veck	f4. Främst i ductus bursae och i corpus bursae bakre del två längre veck som är riktade åt olika håll
m5. Vesican har till vänster en kort divertikel med en stor cornutus	m6. Vesican har till vänster en lång divertikel utan cornutus
f5. Bursan har till höger en rund divertikel med stark, rynkig vägg	f6. Bursan har till höger en längre och smalare divertikel med svagare väggar

Som ytterligare låsmekanismer fungerar ett tandfält ventralt vid aedeagus-spetsen (*A. inebriata*) eller på högra sidan på basen av vesican, samt ett tandfält ventralt på vesicans yttre del. Båda motsvaras av starkare sklerotiserade väggar i hongenitalierna.

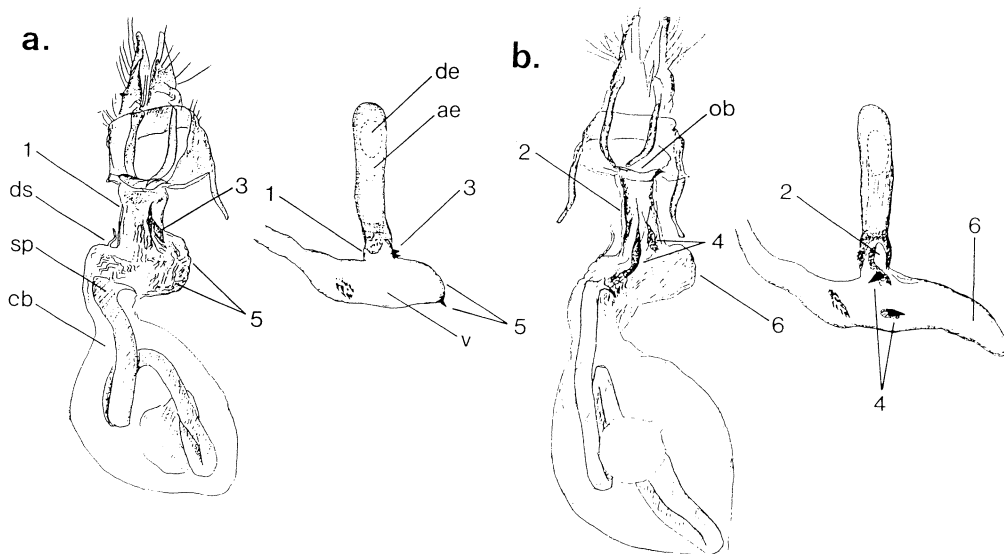


Fig. 2. Aedeagus och vesica (till höger), placerade så att de passar till bursans motsvarande delar (till vänster), a. *Apamea inebrinata* och b. *A. verbascoides*. För numren jämför text. ds = ductus seminalis, sp = spermatofor, cb = corpus bursae, de = öppningen av ductus ejaculatorius, ae = aedeagus, ob = ostium bursae.

2. *Xestia gelida* (Sparre Schneider, 1883)/*X. fabulosa* (Ferguson, 1965) st. rev.

När Ferguson (1965) beskrev *X. fabulosa*, jämförde han den med *X. sincera* (Herrich-Schäffer), för att namnet hade tidigare använts för taxonet i Nordamerika. De är dock inte nära besläktade. Ferguson visste tydligen inte att systerarten till *X. fabulosa*, dvs. *X. gelida*, lever i Palearktis. De yttre genitalierna är identiska hos dessa taxa.

<i>X. gelida</i>	<i>X. fabulosa</i>
m1. Juxta ca. 5 x bredare än hög (i preparatet), främre bihang låga	m2. Juxta bara ca. 3 x bredare än hög, bihangen klart högre
f1. Ostium bursaes bukplatta med breda laterala bihang samt en smal klyfta mellan dem	f2. Bukplatta med höga laterala bihang samt en bred klyfta mellan dem
m3. Rotdelen av vesica med en ventral säck bakom en transversal klyfta	m4. Två lika stora ventrala säckar på båda sidorna av en tvärklyfta i vesican
f3. I corpus bursaes bakre del en väl avskild ventral säck	f4. En mera diffus och större ventral säck i bursan
m5. Den distala delen av vesica starkt vriden dorsalt och mot höger, i preparatet bakom aedeagus	m6. Den distala delen mindre starkt vriden, i preparatet ovanför aedeagus
f5. Appendix (cervix) bursae vrids dorsalt och sedan långt till vänster och förbi ductus bursae	f6. Appendix vrids dorsalt och mot vänster, räcker knappt förbi ductus bursae.

Sammandrag över de olika organens funktion

Nedan anges i anatomisk ordning framåt från bursans öppning de funktionella motsvarigheter vi hittat i de framförda exemplen samt i talrika fall av kritiska artpar med holarktisk utbredning.

- Ventralplattan (lamella antevaginalis) stoppar juxtan och ger stöd åt den åtminstone i sådana fall där juxtan har en knöl, en tand eller en sklerotiserad kantlist. De motsvarande formationerna i plattan är fördjupningar, klyftor eller bara stärkta kanter.
- Större tänder eller taggrader på utsidan av aedeagus (carina) står vanligtvis så att taggarna är riktade bakåt, och dessa passar till en ficka eller sklerotiserad vägg i ductus bursae och förhindrar aedeagus att glida tillbaka. Däremot är de tänder eller taggar, som vänds först ut från vesican, riktade framåt (i utstjälpt läge). De styr och stoppar vesicans framåtgående genom att passa i långsträckta fickor eller veck, eller helt enkelt förstärkta väggdelar i ductus bursae främre och själva bursans bakre del.
- I corpus bursae bakre del finns ofta en eller flera diverticula med vanliga eller förstärkta och skrynklade väggar, vilka exakt motsvaras av diverticula i vesican (hos honan förefaller dessa ofta vara mindre, för att väggarna är elastiska, och fås inte helt ut med den svaga blåsningsen). De ofta förekommande stora cornuti, som inte tycks ha annan motsvarighet hos honan än förstärkt vägg, fungerar troligen som stimulus på honan.
- Appendix (cervix) bursae är ofta vriden på ett komplicerat sätt, och detta repeteras då vanligtvis i byggnaden av vesicans yttre del. Dock kan corpus bursae vara bollartad eller formad som en långsträckt säck, eller delad i två säckar, utan att detta alls återspeglas i vesicas byggnad. Då är det avgörande, hurdan spermatoforen är, och hur den läggs i bursan: det är alltså fråga om ett beteendemönster för vesican.

Erfarenheterna hittills visar, att de inre hangenitaliernas och hongenitaliernas lås- och-nyckel funktioner kan klassifieras på följande sätt: a) styrningen och stoppandet av aedeagus: juxta samt tänder eller taggfält på aedeagus-spetsen eller vesicans basdel; b) låsningen i bursans bakre del: ovannämnda tänder eller taggfält samt likadana på vesicans bashält, diverticula eller grenar av vesican (vilka kan flytta plats mellan bursans grenar, se Callahan & Chapin (1960); c) placandet av spermatoforen på sådant sätt i bursan att dess bakre öppning mynnar i öppningen av ductus seminalis: yttre hälften av vesican. Med c) kan ytterligare lås- och-nyckel mekanismer vara bundna: vesicans yttre del och appendix (cervix) bursae är ofta svullna, förlängda eller vridna på motsvarande sätt.

Dessa mycket komplicerade system gör, att det är nästan uteslutande då hanen och honan är av samma art som sperman införes i honans ductus seminalis. Det har också påvisats inom släktet *Euxoa*, att även ganska vitt från varandra stående arter kan få (steril) avkomma, om vesicornorna råkar vara likadana, medan sperman inte kan införas i honans ductus seminalis ens i mycket närbesläktade arter, om vesicornorna är olika (Byers & Hincks 1978, Lafontaine 1981).

Jämförandet av exemplar från vitt från varandra liggande områden, såsom Brittiska öarna och Kamtjatka eller Alaska och Newfoundland, visar att det praktiskt taget inte finns någon intraspecifik variation i vesicamorfologin. Det tycks uppkomma mera variation som följd av preparationen än vad som egentligen finns i populationerna. Dock måste man vara försiktig med antalet och placeringen av cornuti: de kan någon gång uppvisa förbluffande mönster och tydligen kan cornuti förloras i parningen. Man har också iakttagit, att det kan finnas flera vesicatyper hos en enda art, dock med små skillnader, t. ex. *Euxoa lidia* (Stoll) (P. Grotenfelt & K. Mikkola opubl.).

Vesicaformen har redan en tid betraktats som givande och pålitligt taxonomiskt kännetecken, men en viss subjektivitet har dock

stått kvar. Lås-och-nyckel metoden gör saken klart säkrare: om de funktionellt motsvarande skillnaderna också hittas i honorna, är artfrågan avgjord med stor säkerhet.

Tacksägelse

Vi tackar Mr. Eric Rockburne för många fina preparat och doc. Hand Silfverberg för granskningen av svenska språket.

Litteratur

- Alexander, R.D., 1964: The evolution of mating behaviour in arthropods. - Symp. Royal Entomol. Soc. London 2: 78-94.
- Byers, J.R. & Hinks, C.F., 1978: Biosystematics of the genus *Euxoa* (Lepidoptera, Noctuidae). XI. Mating discrimination between three closely related species of the declarata group. - Canadian J. Zool. 56: 1981-1987.
- Callahan, P.S. & Chapin, J.B., 1960: Morphology of the reproductive systems and mating in two representative members of the family Noctuidae, *Pseudaletia unipuncta* and *Peridroma margaritosa*, with comparison to *Heliothis zea*. - Ann. Entomol. Soc. Amer. 53: 763-782.
- Cholodkowsky, H., 1886: Muzhskoy Polovoy Apparat Cheshuekrylykh. (Der männliche Geschlechtsapparat der Schmetterlinge). St. Petersburg.
- Ferguson, D.C., 1965: A new North American Noctuid of the genus *Anomogyna* (Insecta, Lepidoptera). - Postilla, New Haven 89: 1-11.
- 1977: A new North American species of *Apa-meia* formerly confused with *A. verbascoides* (Guenée) (Noctuidae). - J. Lep. Soc. 31: 57-62.
- Hardwick, D.F., 1950: Preparation of slide mounts of lepidopterous genitalia. - Canadian Entomologist 82: 231-235.
- 1965: The corn earworm complex. - Mem. Entomol. Soc. Canada 40: 1-247.
- 1970: A generic revision of the North American Heliethidinae (Lepidoptera: Noctuidae). - Mem. Entomol. Soc. Canada 73: 1-59.
- Lafontaine, J.D., 1981: Classification and phylogeny of the *Euxoa detersa* group (Lepidoptera: Noctuidae). - Quaestiones Entomol. 17: 1-120.
- Lederer, J., 1857: Die Noctuinen Europas. Wien.
- Petersen, W., 1904: Die Morphologie der Generationsorgane der Schmetterlinge. - Mem. Acad. Imp. Sci. St. Petersburg VIII, Tom. 16: 1-84.
- 1907: Über die Spermatophoren der Schmetterlinge. - Z. wiss. Zool. 88: 117-130.
- Pierce, F.N., 1909: The Genitalia of the British Noctuidae. Liverpool.
- Proshold, F.I., La Chance, L.E. & Richard, R.D., 1975: Sperm production and transfer by *Heliothis virescens*, *H. subflexa* and the sterile hybrid males. - Ann. Entomol. Soc. Amer. 68: 31-34.
- Rentz, D.C., 1972: The lock and key as an isolating mechanism in Katydid. - Amer. Scientist 60: 750-755.
- Reuter, O.M., 1880: Om anormala kopulationsförhållanden hos insekterna och i sammanhang därmed stående frågor. - Öfversigt Finska vet.-Soc:s Förhandl. 23: 1-30.
- Stekolnikov, A.A., 1965: Functional morphology of the copulatory apparatus in some Lepidoptera. - Entomol. Rev. 44: 143-149.
- Zeller, P.C., 1855: Die Gattung Butalis. - Linn. Entomol. 10: 196.