

文章编号: 1000-0615(2000)04-0297-06

泥 蚶 精 子 的 超 微 结 构

孙慧玲¹, 方建光¹, 王清印¹, 燕敬平¹,
李 锋¹, 张继红¹, 梁兴明¹, 梁翻鹏¹, 孟瑞平²

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071; 2. 青岛市水产技术推广站, 山东 青岛 266071)

摘要:报道了泥蚶成熟精子在 SEM 和 TEM 下的超微结构观察结果。描述了其外部形态和内部构造, 扫描电镜观察的泥蚶精子呈具有细长鞭毛的蝌蚪状, 分头部和尾部, 精子全长约 52~58 μ m, 头部长约 2.7~2.9 μ m。在透射显微镜下, 根据其结构泥蚶的精子可分为头部、中段和末段。头部顶体明显突出呈倒 V 字形, V 字形顶端膨大形成圆球形结构; 细胞核近似卵圆形, 是整个精子电子密度最高的部分, 在细胞核区域内有囊泡存在, 且在不同的切片样品中囊泡所处的位置完全不同。中段由相互垂直的近、远端中心粒和围绕在其周围的 5 个卵圆形线粒体组成, 中心粒为中空的圆柱形; 具有卫星体结构。尾部为典型的“9+2”结构。

关键词: 泥蚶; 精子; 超微结构

中图分类号: S917; Q336 文献标识码: A

Ultrastructure of the spermatozoon of *Tegillaca granosa*

SUN Hui-ling¹, FANG Jian-guang¹, WANG Qing-yin¹, YAN Jing-ping¹, LI Feng¹,
ZHANG Ji-hong¹, LIANG Xing-ming¹, LIANG Fan-peng¹, MENG Rui-ping²

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, CAFS, Qingdao 266071, China;

2. Qingdao Fisheries Technical Extension Station, Qingdao 266071, China)

Abstract: Electron microscopy reveals mature spermatozoon of *Tegillaca granosa*. The observation shows that the spermatozoon of *Tegillaca granosa* is of flagellate construction in SEM. The body and head length of sperm is 52~58 μ m and 2.7~2.9 μ m respectively. The mature spermatozoon consists of head, middle piece and tail in TEM. The acrosome is V-shaped in upside-down, and the top of V-shaped inflate to become a globoid in which there are many tiny particulate material. The unclear is egg-shaped with high electron-density. The vesicle was found in the unclear-region, and it is in different position. Two centrioles and five large globular mitochondrias form middle piece of sperm. The centrioles are of cylindrical hollow construction surrounded by five mitochondrias bodies and separated from the basal plate of the tail. A satellite body was found at the basal part of the distal centriole. The flagellum is a typical “9+2” microtubular structure limited by the cell membrane.

Key words: *Tegillarca granosa*; spermatozoon; ultrastructure

生殖细胞是生物体发生和发育的基础, 随着海洋生物基础研究和生物技术应用研究的深入发展, 揭示生物发生发育的内在机制, 海洋生物的超微结构的研究是必不可少的。动物精子的形态结构与其运

收稿日期: 1999-08-17

基金项目: 国家攀登计划 B 资助项目(PDB-6-3-2)

作者简介: 孙慧玲(1958-), 女, 山东省莱州市人, 副研究员, 主要从事海洋生物发育与生态学研究。Tel: 0532-5822957, E-mail: model

动方式和受精过程密切相关,是受精生物学的一个重要研究内容,越来越受到研究人员的重视。在海洋动物的研究中,有关甲壳类动物精子的研究已有许多的报道,堵南山等^[1]、张子平和王艺磊^[2]、林勤武等^[3]等分别报道了中华绒螯蟹和对虾精子的形态以及超微结构。关于双壳贝类尤其是经济贝类的精子发生过程和精子的超微结构至今也有不少研究报道。曾志南和李复雪^[4]、刘正琮等^[5]、沈亦平和张锡元^[6]分别对青蛤(*Cyclina sinensis*)、缢蛏(*Sinowacu constricta*)、合浦珠母贝(*Pinctada martensii*)精子发生过程的超微结构进行了观察。Longo 和 Domfeld^[7]、Galtsoff 和 Philpott^[8]、任素莲等^[9]分别报道了贻贝(*Mytilus edulis*)、牡蛎(*Crassostrea virginica*)、栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)精子的超微结构,关于泥蚶(*Tegillarca granosa*)精子超微结构的观察研究至今尚未见报道。泥蚶是我国四大经济贝类之一,目前自然资源遭受严重破坏,有关研究工作已经开展,基础研究势在必行。本项研究是在对泥蚶受精细胞学及生物学研究中,对泥蚶精子的超微结构进行的详细观察,并对其进行了讨论。

1 材料与方法

1.1 试验材料

性腺成熟的泥蚶亲贝取自山东省文登市沿海,实验室暂养水温为 26~ 27℃,用阴干、冷刺激以及升温的方法刺激亲贝排精。精子排入水中后立即取样并用 2.5% 的戊二醛固定。

1.2 方法

供扫描电镜观察用样品以 2.5% 戊二醛固定后,纯酒精梯度脱水,醋酸异戊脂中置换,日立 HCP- 2 型临干燥仪干燥,IB- 3 型离子溅射仪喷金,剑桥 S- 250MK3 型扫描电镜观察。供透射电镜观察的样品经 2.5% 的戊二醛固定后,1% 锇酸后固定,乙醇梯度脱水,Epon812 环氧树脂包埋,LKB 超薄切片机切片,醋酸铀柠檬酸双重染色,在日立 H- 7000 型透射电镜下观察拍照。

2 结果

2.1 扫描电镜的观察

泥蚶精子为鞭毛型,精子主要由两部分组成:宽大的头部和细长的尾部。精子全长约 52~ 58μm,头部长约 2.7~ 2.9μm,宽约 1.5~ 1.7μm(图版- 1)。头及尾部外表面平滑基本无皱褶,头部轮廓线并非流线型,而是精子头部的前端突出,后端较宽大,并在中间有一定的收缩,使得整个精子头部似呈葫芦状(图版- 2)。

2.2 透射电镜观察

泥蚶的精子从结构上可分为三段:头部、中段、末段。

2.2.1 头部

在 TEM 下泥蚶精子头部主要由顶体与细胞核组成。顶体(acrosome)位于精子的最前端,透射电镜观察顶体明显突出,呈倒立 V 字形,在精子纵切面的中轴方向上,顶体向前突出长达细胞核纵向长度的 1/2。顶体周围为单层膜结构,顶体膜明显可见,整个顶体电子密度均匀。顶体内面中轴处有一近圆柱形的亚顶体腔(subacrosome space),亚顶体腔的柱状部分的顶端明显膨大成为一球状(图版- 3),直径约为 0.25μm 左右,腔体内有一些细小的颗粒物质。顶体下方为细胞核(nucleus),顶体与细胞核之间有一宽度约为 0.1~ 0.17μm 的间隙,且内有比亚顶体腔内更密集的颗粒物质。细胞核呈近似卵形,但在下端与中心粒相邻处细胞核有内陷,形成核后窝(posterior nuclear fossa)或中心体窝(centriole fossa);与线粒体相邻处由于球状线粒体的嵌入细胞核亦向内凹陷,形成植入窝(implantation fossa)。细胞核内染色质致密,是整个精子电子密度最高的部分并且电子密度均匀。在细胞核内部能观察到有一形状较为规则

的近圆形的囊泡, 并且在不同的切片中囊泡的位置有所不同且始终只有一个, 但基本围绕在精核中轴附近(图版- 4, 5)。

2.2.2 中段

泥蚶精子的中段位于细胞核与末段之间。中段与细胞核相接处由核膜和线粒体膜形成一明显的界限, 中段的主要结构有线粒体(mitochondria)和中心粒复合体(centriolar complex)。

线粒体是精子能量的供应中心, 是细胞非常重要的结构成分。泥蚶精子的纵切面一般可观察到 2~3 个大小不等的卵圆形线粒体, 中段的横切面最多时可见到有 5 个大小不等近似卵圆形的线粒体围绕在中心粒复合体的周围。线粒体为双层膜结构, 内膜向腔内折叠形成极明显的褶皱峭突, 且线粒体嵴的电子密度高而均匀。线粒体横切面的长轴平均为 1.1 μm , 短轴为 0.85 μm 。线粒体与质膜之间有较大的细胞质区域, 其内有明显的糖元颗粒(图版- 6)。中心粒复合体由近端中心粒(proximal centriole)和远端中心粒(distal centriole)组成(图版- 7), 中心粒(centriole)为中空的两圆筒状结构, 两中心粒的长轴相互垂直, 近端中心粒的长轴与精子长轴垂直, 横切面直径约 0.45 μm ; 远端中心粒长轴与精子长轴平行, 轴长度约 0.60 μm ; 近端中心粒位于精子核后端核后窝内, 远端中心粒紧接在近中心粒的下方, 由远端中心粒的后端引生出精子尾鞭的轴丝。同时还可以观察到在近、远端中心粒的中空圆柱结构内有一些细小的颗粒物质。另外, 可以观察到卫星体(satellite body)结构, 它是在远端中心体粒的周围形成的呈辐射状的一些电子致密物结构与质膜相连接, 我们称它为中心粒卫星体(图版- 8)。

2.2.3 末段

泥蚶精子的末段为鞭毛形, 横切面为卵圆形, 直径约为 0.3 μm 左右, 外周有质膜包围, 内有轴丝(axoneme), 为典型的“9+2”结构, 它是由远端中心粒的末端引发出的位于中央的两条纤维状轴丝及其周围的 9 条纤维组成(图版- 9, 10)。

3 讨论

3.1 精子头部形态

大多数海洋软体动物为体外受精, 所以其精子多为鞭毛型, 但精子的形态各不相同, 主要取决于精子头部精核和顶体部分的形状以及亚顶体腔的结构。鲍和青蛤精子为子弹头状^[10]; 栉孔扇贝精子为锥形^[9]; 牡蛎精子的亚顶体腔特别宽大, 几乎达到了精核的底端^[8]; 贻贝则具有比精核还要长的顶体^[7]。多数海洋双壳类动物精子顶体多呈或长或宽的倒 V 字形, 亚顶体腔或宽阔或狭窄, 而且其内部结构亦不尽相同。许多种类在亚顶体腔内出现一些复杂的结构, Galtsoff 和 Philpott 较早地在牡蛎精子顶体腔内发现类似于纤维状物的低电子密度束, 他们把这一结构称为轴体(axial body), 并认为轴体的结构和位置与精子的轴丝有关^[8]。Longo 和 Domfeld^[7]在贻贝精子中也观察到了类似的结构, 称这一结构为轴棒(axial rod), 指出贻贝精子顶体囊形成的同时有轴棒形成。刘正琮^[5]等把缢蛏精子中的类似结构叫做顶体柄。我们观察的成熟泥蚶精子中, 其精子头部顶体也与多数贝类精子一样呈倒 V 字形, 但与其它精子不同之处是泥蚶精子顶体极明显地向前突出的同时, 亚顶体腔在 V 字形的顶部形成一球状, 这一形态特征在其它精子中比较少见。泥蚶精子核没有核前窝, 因此亚顶体腔显得比较狭小, 与舟蚶(*Anadara trapezia*)的这一结构相似, 但在亚顶体腔内未发现与舟蚶相类似的囊泡状结构^[11]。另外, 亚顶体腔内也未发现类似于纤维束状物质的存在, 即没有轴体或轴棒的存在, 而在这一位置被一些微小颗粒物质所填充, 这些颗粒可能会起到与轴体相同的功能。研究指出, 这些颗粒物质实际是没有聚合的球状肌动蛋白^[12, 13]。

3.2 存在于细胞核中的泡状结构

在观察到的许多超薄切片中, 泥蚶精核区域发现有形态比较规则的囊泡(vesicle)状的结构, 其内有微小颗粒, 同时发现泡状结构在核区所处的位置在不同的切片中有所不同, 但无论它是在精核内上、中

还是下端的位置均靠近精子纵轴线附近,同时泥蚶精子内的这一泡状结构比较规则,其大小变化亦不大,长短径平均在 $0.20\sim 0.25\mu\text{m}$ 。通过观察分析,不同位置的泡状结构可能是由一个囊泡在核区内移动形成的,囊泡的形成可能与精子中段有关,精子排出后线粒体释放能量,囊泡可能携带一定的能量或在能量的推动下通过核区向精子顶部移动,起到能量传递或运输的作用。分布于核区的泡状结构在大珠母贝^[14]、红鲢^[15]、栉孔扇贝等其它动物的精子中也可以观察到,但其形态多不规则,对这一结构的讨论看法不一,Xia等^[16]认为泡状结构是因精子的轻度损伤所致;任素莲等^[9]对栉孔扇贝精子的这一结构是人为因素还是正常结构尚未定论;本观察结果分析认为成熟泥蚶精核中的泡状结构实属自然结构,其功能有待进一步研究。

3.3 线粒体的数量

线粒体是精子能量的供应中心。多数海洋软体动物的线粒体在其形态和结构上基本相同,即切面呈卵圆形,其内有内膜折叠形成的嵴,不同贝类线粒体的数量有差异但变化不大,一般同一种精子线粒体数目相对稳定,但也有报道同一贝类精子线粒体数量也不完全相等,如合浦珠母贝的精子线粒体为4~5个,缢蛏精子线粒体为4~6个;还有报道同一种贝类经诱导产生的多倍体精子的线粒体数量与其正常二倍体亦不相同^[17]。关于泥蚶成熟精子线粒体的数量,可以观察到1、2、3、4个,最多可见到有5个线粒体的存在,经对样品的综合分析,认为其线粒体的数量为5个。从缢蛏、青蛤以及合浦珠母贝等的精子发生可以观察到线粒体在精子的发生发育过程中普遍存在着线粒体的体积由小渐大、数量由多渐少的发育过程,因此同种成熟精子内线粒体的数量不完全一致是很自然的;根据Popham^[11]对近20种贝类精子的调查,绝大多数线粒体数量为4个,个别有5个。泥蚶精子线粒体与这些贝类基本相一致。另外,从所观察到的切片无论哪一个角度其线粒体大小都没有规律,可以认为,泥蚶精子的5个线粒体存在着或者大小不等,或者围绕在中心粒周围的线粒体不在一个水平面上的现象。

3.4 中心体相关结构

双壳类软体动物精子中的这一结构是由存在于精子中段中心体周围的辐射状电子致密物所形成的。沈亦平和张锡元^[6]在合浦珠母贝精子的远侧中心体周围观察到了这种结构,并称其为“中心体相关结构”(centriole satellite complex)。Thielley等^[18]称这一结构为“卫星体”(satellite body),指出这一结构位于核后窝处,作为近侧中心粒与核膜间的联系,而且这一结构已在许多种类如澳洲节铠船蛆(*Bankia australis*)、节铠船蛆(*Bankia carinata*)、*Crassostrea virginica*、珠母贝(*Pinctada margaritifera*)中有过描述;而Dorange和Pennec^[19]对大扇贝(*Pecten maximus*)的这一结构的观察指出,卫星体结构是在远侧中心粒的基部,形成远侧中心粒与质膜间的连接;在对珠母贝(*Pinctada*)精子的观察中提到,在近、远端中心粒周围都有卫星体结构。Popham^[11]也曾报道过卫星体在几种贝类精子中的存在。在泥蚶精子中我们也观察到了相似的结构,而且可以观察到在远端中心粒周围的这些呈辐射状的结构与质膜相连接,并使尾部鞭毛基部的质膜明显内陷。我们可称它为中心粒卫星体结构。鞭毛型精子其鞭毛与头部的连接往往是非常脆弱的,我们在观察中看到的多是在此断开的精子,因此,从观察到的中心粒卫星体结构,分析认为其功能是有利于加固鞭毛与精子头部的连接,有利于精子的运动,这一点与沈亦平等的观点相一致;Thielley等^[18]、Popham^[11]只是对其是否存在和结构进行了描述,而没有阐述其功能。

3.5 精子核的形态结构

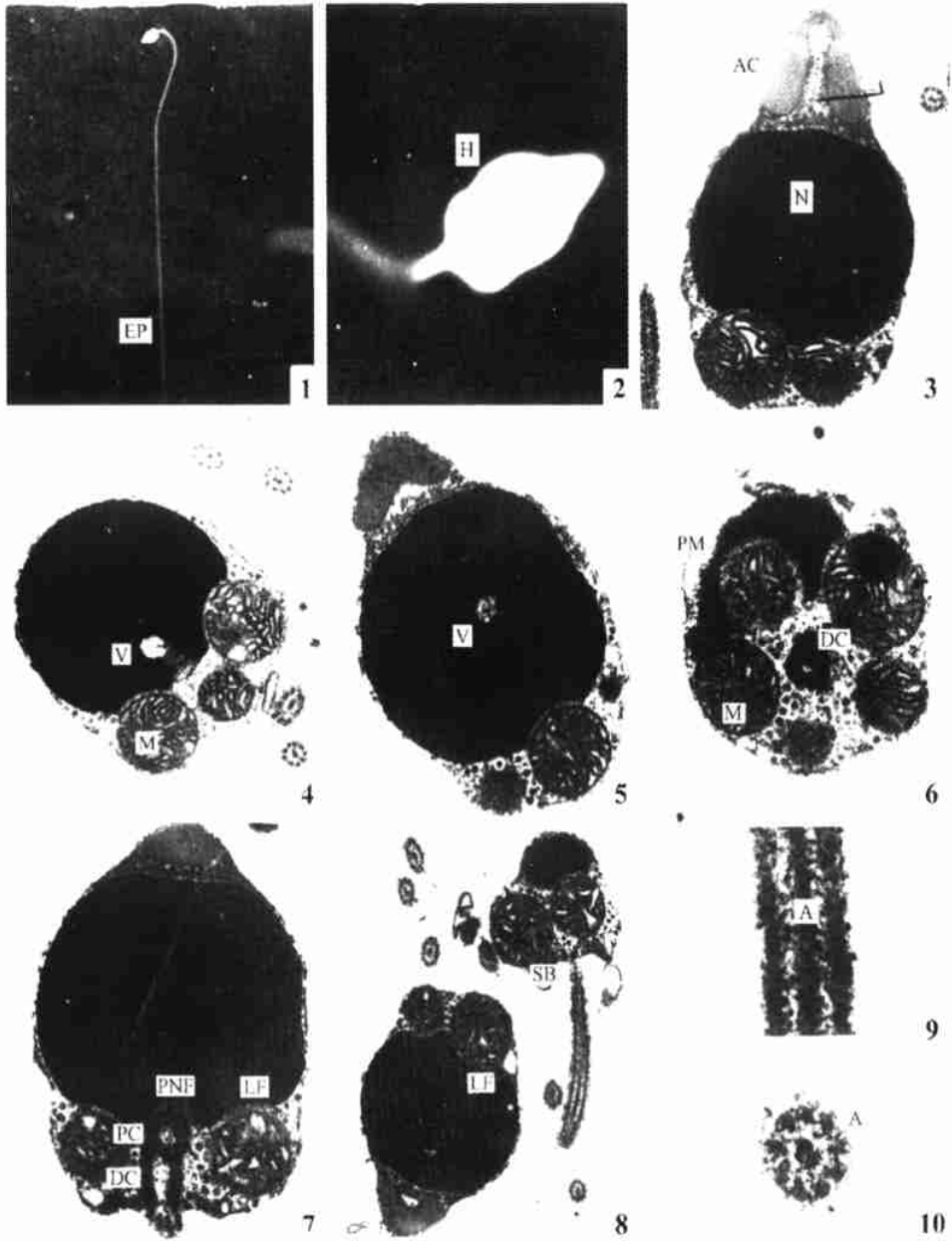
从有关双壳贝精子的超微结构的观察中,对精核形态的描述主要可分为以下两种:卵圆形(缢蛏、合浦珠母贝、牡蛎、贻贝等)和圆长柱形或圆筒形(栉孔扇贝、青蛤等),所不同的是大小和长短轴的比例。另外,在精核的前后端尚有一些不同的结构,这些结构在不同的种类中或有或无各不相同,在栉孔扇贝、牡蛎、不等蛤(*Anomia descripta*)等种类中精核的前端中心区域向核内凹陷形成核前窝(anterior nuclear fossa)或顶体窝(acrosome fossa);在鸟蛤(*Fulvia tenuicostata*)等精子中核前端不仅不内陷相反向前突出

深入亚顶体腔内;而在 *Notocorbula vicaria* 等核前端既不内陷也不突出。在一些贝类种类中核的后端向里内陷形成核后窝 (posterior nuclear fossa) 或称中心体窝 (centriole fossa), 中心粒复合体位于其下方。Popham^[11] 认为核前窝的出现可能与顶体轴棒的出现有关;核后窝的发生与近端中心粒的卫星体的出现有关。有些种类的核在核后窝的周围依线粒体的形态形成内陷为植入窝 (implantation fossa), 线粒体恰好半嵌入其植入窝内。以上所述精核结构并不是所有种类都具有的。泥蚶的精子核属于卵圆形, 可观察到核后窝和植入窝, 而核前窝不明显。

对青岛海洋大学的姜明副教授和中科院海洋研究所谢嘉琳副研究员在电镜制片等方面给予的帮助表示感谢。

参考文献:

- [1] 堵南山, 赖伟, 薛鲁征. 中华绒螯蟹精子的研究 I. 精子的形态及超微结构 [J]. 海洋与湖沼, 1987, 18(2): 119- 125.
- [2] 张子平, 王艺磊. 对虾精子的形态结构 I. 成熟精子的形态与超微结构 [J]. 厦门水产学院学报, 1991, 13(2): 1- 9.
- [3] 林勤武, 刘瑞玉, 相建海. 中国对虾精子的形态结构、生化生理功能的研究 I. 精子的超微结构 [J]. 海洋与湖沼, 1991, 22(5) 397- 401.
- [4] 曾志南, 李复雪. 青蛤精细胞分化的超微结构研究 [J]. 海洋学报, 1991, 13(4): 547- 551.
- [5] 刘正琮, 上官步敏, 许振祖. 缢蛏精子发生的超微结构研究 [J]. 厦门大学学报 (自然科学报), 1990, 29(1): 81- 84.
- [6] 沈亦平, 张锡元. 合浦珠母贝精子发生过程的超微结构观察 [J]. 武汉大学学报 (自然科学报), 1993, (3): 123- 129.
- [7] Longo F J, Domfeld E J. The fine structure of spermatid differentiation in mussel, *Mytilus edulis* [J]. J Ultrastr Res, 1967, (20): 462- 480.
- [8] Galtsoff P S, Philpott D E. Ultrastructure of the spermatozoon of the Oyster, *Crassostrea virginica* [J]. J Ultrastr Res, 1960, (3): 241- 253.
- [9] 任素莲, 王如才, 王德秀. 栉孔扇贝精子超微结构的研究 [J]. 青岛海洋大学学报, 1998, 28(3): 387- 391.
- [10] 孙振兴, 王如才, 姜明, 等. 皱纹盘鲍受精过程的电镜观察 [J]. 动物学研究, 1997, 18(3): 253- 257.
- [11] Popham J D. Comparative spermatozoon morphology and bivalve phylogeny [J]. Malacol Rev, 1979, 12: 1- 20.
- [12] Tilney L G. The polymerization of actin: Its in the generation of the acrosomal proceads of certain sperm [J]. J Cell Biol, 1973, 59: 109- 126.
- [13] Tilney L G. Aggregates of nonfilamentous actin and associated protein: A storage for actin [J]. J Cell Biol, 1976, 69: 73- 89.
- [14] 杜晓东. 大珠母贝精子发生超微结构变化的研究 [J]. 武汉大学学报 (自然科学报), 1996, 42(2): 219- 224.
- [15] 林光华. 红鲤精子精细结构的研究 [A]. 中国生殖生物学第二次学术会议论文摘要选编 [C]. 1982.
- [16] Xia L J, George F I, Michael A A, et al. Ultrastructure of fresh and frozen-thawed spermatozoa of high and low fertility lines of chicken [J]. Poul Sci, 1988, 67: 819- 825.
- [17] Komaru A, Scarpa J, Wada K T. Ultrastructure of spermatozoa in induced tetraploid Mussel *Mytilus gallprovincialis* [J]. J Shellfish Res, 1995, 14(2): 405- 410.
- [18] Thielley M, Weppe M, Herhaut C. Ultrastructural study of gametogenesis in the french polynesian black pearl oyster *Pinctada margaritifera* (Mollusca, Bivalvia) [J]. J Shellfish Res, 1993, 12(1): 41- 47.
- [19] Drange G M, Penec L. Ultrastructural characteristics of spermatogenesis in *Pecten maximus* (Mollusca, Bivalvia) [J]. Invert Reprod Dev, 1989, 15(2): 109- 117.



图版 泥蚶精子的超微结构

Plate Ultrastructure of the sperm of *Tegillaca granosa*

1. 精子外观(SEM); 2. 精子头部(SEM); 3. 精子头部纵切, 示核、顶体、亚顶体腔(TEM); 4, 5. 精子头部纵切, 示核内不同位置囊胞(TEM); 6. 精子中段横切, 示远侧中心粒、线粒体(TEM); 7. 精子中段纵切, 示中心粒复合体(TEM); 8. 精子纵切, 示尾部与中段(TEM); 卫星体结构; 9. 精子尾部纵切片断(TEM); 10. 精子尾部横切(TEM)。

H: 精子头部(head of the sperm); EP: 精子未段(end piece); AC: 顶体(acrosome); SS: 亚顶体腔(subacrosome space); N: 核(nuclear); PM: 质膜(plasma membrane); M: 线粒体(mitochondria); PC: 近侧中心粒(proximal centriole); DC: 远侧中心粒(distal centriole); A: 轴丝(axoneme); V: 囊胞(vesicle); PNF: 核后窝(posterior nuclear fossa); LF: 植入窝(implantation fossa); SB: 卫星体(satellite body)。