

# 秀丽白虾精子的形态及超微结构\*

黄海霞 谈奇坤

(安徽师范大学生物学系 芜湖 241000)

**摘要:** 运用电子显微镜技术和细胞化学方法对秀丽白虾精子进行了形态和超微结构研究。结果发现,秀丽白虾精英中有形似外翻伞状的成熟精子。精子主体部凸面伸出长约  $6 \sim 7 \mu\text{m}$  的单个棘突,主体部基部为非电子致密的均匀核,核膜呈半解体状态,帽状体中有约 20 根放射状纤丝和大量内含电子致密基质的膜泡。棘突和帽状体构成顶体复合体,成熟精子中未发现中心体。

**关键词:** 秀丽白虾;精子;超微结构

**中图分类号:** Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2001)04-02-04

## The Morphology and Ultrastructure of the sperm of Freshwater Shrimp *Exopalaemon modestus*

HUANG Hai-Xia TAN Qi-Kun

(Department of Biology, Anhui Normal University Wuhu 241000, China)

**Abstract:** The morphology and ultrastructure of the sperm of the freshwater shrimp, *Exopalaemon modestus*, were studied with electron microscopy and cytochemical methods. The results show that spermatophors from male *Exopalaemon modestus* contain mature sperms, which resemble everted umbrellas. A single  $6 \sim 7 \mu\text{m}$  spike extends from the convex side of the main body of the sperm. A decondensed nuclear is housed in the base of the main body. The cap-shaped body contains about twenty radial fibrils and lots of membrane vesicular with electric dense material in it. The cap-shaped body and spike comprise the acrosome complex. The cytoplasm of mature sperm is devoid of centrioles.

**Key words:** *Exopalaemon modestus*; Sperm; Ultrastructure

十足目甲壳动物的精子被认为是缺少中段和鞭毛的非典型精子,本世纪以来国内外学者在对精子的超微结构深入研究的基础上,证明爬行亚目(Reptantia)和游泳亚目(Natantia)的精子在结构上有着明显的不同<sup>[1]</sup>。有关游泳亚目精子的研究,对虾派(Penaeidae)已建立了较为统一的结构模型<sup>[2-5]</sup>。而真虾派(Caridea)精子的研究工作却存在许多问题尚未解决<sup>[6-9]</sup>。为进一步开展这类精子的研究,本文就秀丽白虾(*Exopalaemon modestus*)精子的形态及超微结构

进行报道,以期全面认识十足目精子提供资料。

### 1 材料与方法

性成熟的雄性秀丽白虾个体于 1998 年 6 月中旬取自巢湖,从输精管中取出精英。

\* 安徽省教委自然科学基金资助项目(No:96JL0033);

第一作者介绍 黄海霞,女,25 岁,硕士;研究方向:动物学;现通讯地址:上海第二医科大学 2000 博,200025;

收稿日期:1999-10-20,修回日期:2001-04-30

扫描电镜样品用玻璃匀浆器解离精英,离心法收集沉淀材料。2.5%戊二醛固定3 h, PBS液洗3次后,以1%锇酸固定1 h。酒精系列脱水后入醋酸异戊酯,CO<sub>2</sub>临界点干燥,真空离子溅射喷金,KYKY-1000B型扫描电镜观察。

透射电镜样品以2.5%戊二醛固定精英3 h, 0.1 mol/L (pH 7.2) PBS漂洗, 0.1%锇酸后固定1 h, 酒精系列脱水, Epon812包埋, LKB型超薄切片机切片, 醋酸铀和柠檬酸铅双重染色, H-600型透射电镜观察。

细胞化学材料以冷丙酮固定, 常规石蜡包埋, 切片厚度约6 μm, Feulgen反应显示DNA, Gomori-CoS反应显示碱性磷酸酶, Gomori-PbS反应显示酸性磷酸酶, Olympus BH-2型显微镜观察。

## 2 结 果

**2.1 精子的外部形态** 扫描电镜显示, 秀丽白虾精子形似外翻伞状, 由前端棘突和后主体部组成。精子全长11~13 μm, 主体部直径约8~10 μm, 高约4~6 μm, 后端中央部分略向内凹, 外周伞面分布有约20根放射状纤丝并汇合于凸面中央, 形成长约6~7 μm的棘突(图版 I: 1)。

**2.2 精子的内部结构** 透射电镜显示: 秀丽白虾精子由精核、帽状体和棘突三部分组成(图1, 图版 I: 2)。

**2.2.1 精核的形态学和细胞化学** 精核为一非电子致密区域, 占主体部的大部分, 核质均匀, 凹面处无明显核膜, 仅被细胞膜。细胞膜常内陷, 通过吞噬作用吸收输精管中的泡状分泌物, 在核的质膜内缘形成直径约0.5 μm, 内含高电子致密基质的圆形小泡(图版 I: 2, 3), 核前端与细胞质分界处残存少量不规则核膜(图版 I: 4)。细胞化学反应显示近凹面处核物质呈Gomori-CoS阳性反应(图版 I: 10)。整个精核呈Feulgen阳性反应。

**2.2.2 帽状体部的形态学和细胞化学** 帽状体位于棘突与核之间, 呈帽状半包围精核, 由约20根放射状纤丝和残余细胞质组成(图版 I: 5,

6)。细胞质中无线粒体、中心粒等细胞器, 但分布有丰富的膜泡, 直径约0.2 μm, 泡中含有电子致密基质。放射纤丝具有间隔约为37 μm的横纹, 在亚显微结构上与棘突是连续的(图版 I: 4, 5)。帽状体部为Gomori-PbS反应阳性(图版 I: 11)。

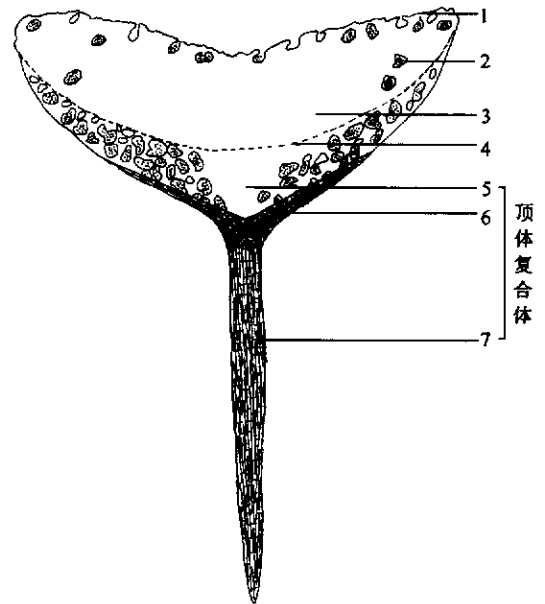


图1 秀丽白虾精子模式图

Fig.1 Ashematic diagram of the spermatozoa in *Exopalaemon modestus*

1. 细胞质膜(plasma membrane); 2. 内含质膜的小泡(vesicle containing matrix); 3. 细胞核(nuclear); 4. 核膜(nuclear envelope); 5. 细胞质带(cytoplasmic band); 6. 放射纤丝(radial fibril); 7. 棘突(spike)

**2.2.3 棘突的形态学和细胞化学** 棘突由帽状体内的放射状纤丝在主体部凸面中央汇集并延伸而成(图版 I: 6)。棘突外被质膜, 基部横切显示纤丝间夹有内含电子致密颗粒的膜泡, 膜泡直径约0.2 μm(图版 I: 7)。中部横切中这种膜泡消失(图版 I: 8), 近顶端横切面纤丝密集呈颗粒状(图版 I: 9)。棘突呈Gomori-PbS阳性反应(图版 I: 11), 与帽状体共同构成顶体复合体。

## 3 讨 论

**3.1 棘突的本质和功能** 通过形态学观察发

现,秀丽白虾的棘突外被质膜,且与帽状体放射纤丝相连续。棘突和帽状体均为细胞质衍生物。棘突基部横切显示内含基质的膜泡,形态大小与帽状体中膜泡一致,且均含酸性磷酸酶,推测膜泡是一种顶体物质。棘突近顶部横切显示在密布的纤丝之中出现一微管状结构,但在纵切面上却未观察到。在罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)<sup>[2]</sup>和日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)<sup>[3]</sup>中亦有相似报道。但对受精过程的深入研究已证明,棘突为 Gomori-PbS 反应阳性部位且在精子穿透卵包被的过程中是前端<sup>[4,5]</sup>,本文未进行受精过程观察,但通过细胞化学反应亦发现棘突具酸性磷酸酶活性,推测秀丽白虾精子的棘突可能和罗氏沼虾一样行使部分顶体功能。

**3.2 帽状体的构成** 秀丽白虾帽状体中含有丰富的电子致密泡,而放射纤丝只占其凸面的一小部分,这与罗氏沼虾、日本沼虾、卑湿小长臂虾(*Palaemonetes paludosus*)等其它十足目、游泳亚目精子帽状体中无电子致密泡而主要由放射纤丝构成有所不同<sup>[2,3,6,7]</sup>。细胞化学显示帽状体中含有酸性磷酸酶,推测和棘突一样可能行使部分顶体功能。

**3.3 精子的细胞核** 秀丽白虾精核为均匀非致密区域,核凹面核膜消失,仅被质膜。核凸面与细胞质交界处尚存少量不规则核膜,这与邱高峰、席貽龙等在日本沼虾中的观察结果一致<sup>[3,4]</sup>,而不同于杨万喜等所述核凹面具四层膜的观点<sup>[8]</sup>。

日本沼虾的精核可被划分为泡状带和膜状带<sup>[3,6]</sup>,而罗氏沼虾的精核中既无泡状带又无膜状带,整个精核是均一的<sup>[2]</sup>。本文发现秀丽白虾的精核构造既不同于日本沼虾又不同于罗氏沼虾,在核凹面质膜内缘分布有内含基质的小泡,这与卑湿小长臂虾精核的情况较为一致<sup>[7]</sup>,说明核的形态存在着种的特异性。本文发现核中的小泡是由质膜凹陷并吞噬精英基质中分泌泡而形成的吞噬泡,这与邱高峰等<sup>[6]</sup>和 Koehler<sup>[7]</sup>的观察结果一致。Koehler 认为这种小泡在本质上即为顶体,而本文通过 Gomori 反应发

现,这些小泡不具酸性磷酸酶活性,而具碱性磷酸酶活性,说明秀丽白虾精核中的小泡不是顶体小泡,而与物质的吸收与转运有关。

**3.4 精子的顶体复合体** Galangan 认为等足目精子中的横纹结构是顶体复合体的一部分<sup>[9]</sup>。Pochon Masson 认为一种海产虾 *Eupayurus bernardas* 的精子棘突是顶体和穿孔器<sup>[10]</sup>。单肢虾和对虾的棘突已被证明为顶体复合体的一部分<sup>[11-14]</sup>,而真虾部精子的顶体结构却一直未形成定论,目前主要有两种观点:一种观点认为核凹面质膜内缘的小泡是一种顶体物质<sup>[7,15]</sup>;另一种观点认为精子的棘突与对虾部一样具顶体功能<sup>[4,5,8]</sup>。虽然均未发现顶体反应,但后一种观点是通过受精作用的观察及顶体特征组化反应而得出的,所以后一种观点更具有说服力。杨万喜等认为日本沼虾的顶体复合体包括顶帽和棘突两部分<sup>[8]</sup>,本文通过形态学观察和细胞化学方法亦得出相同结论,即:秀丽白虾的顶体复合体由帽状体和棘突共同构成。

## 4 结 语

与其它淡水游泳亚目虾类的精子一样,秀丽白虾精子为无鞭毛非运动型,由单一棘突和主体部构成,主体部又可分为细胞核和帽状体。不同的是:核均一,无泡状带或膜状带;帽状体内有顶体颗粒;主体部凹面有明显的内吞作用。而棘突具横纹是所有淡水游泳亚目的共同特征。秀丽白虾精子的功能定位与沼虾属及对虾属相似,细胞化学方法表明:帽状体和棘突具 Gomori-pbs 阳性反应,构成顶体复合体,推测在受精过程中,精子的单一棘突为前端,其作用为牵引精子入卵;主体部为后端,其作用为吸附于卵子表面。

## 参 考 文 献

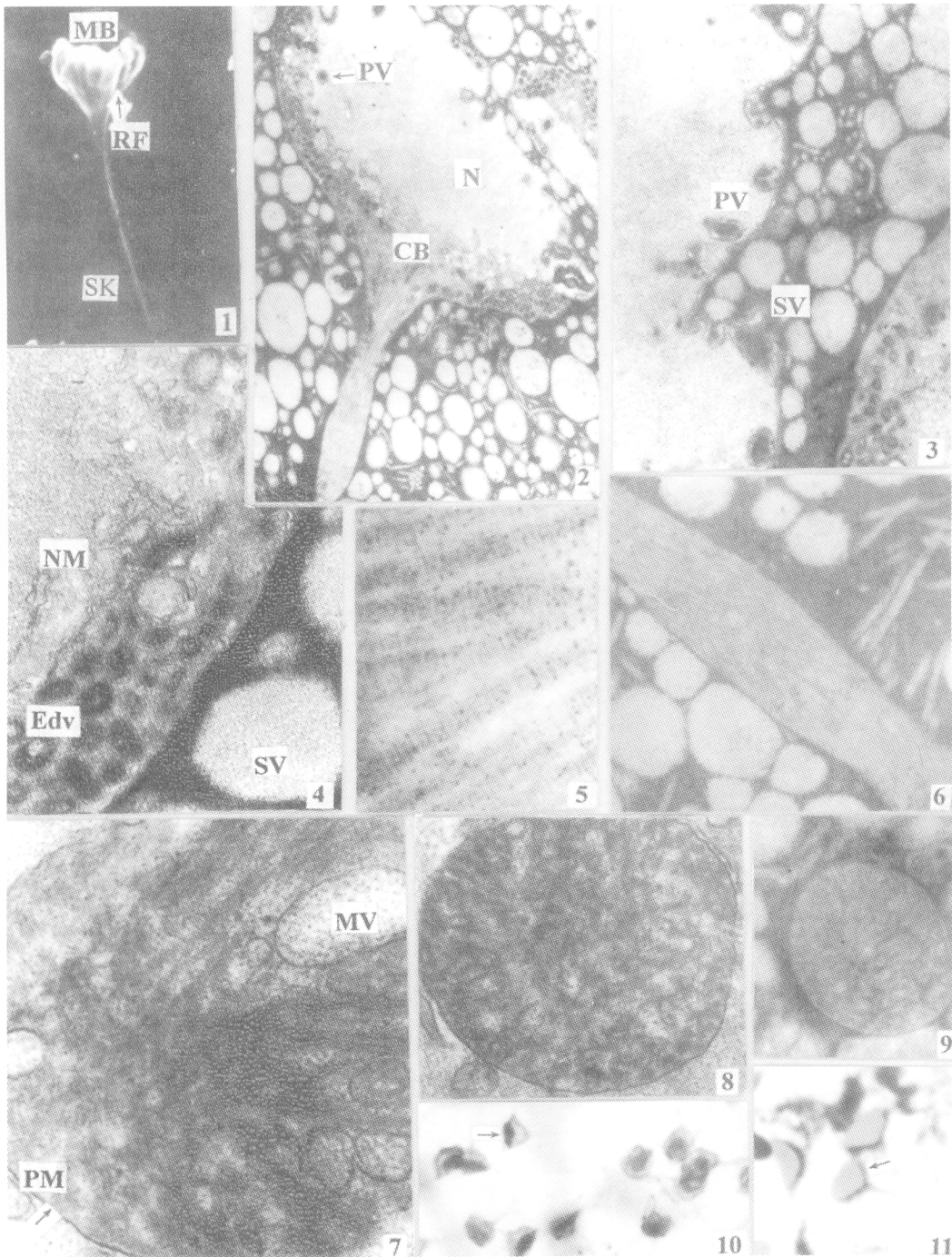
- [1] Talbot, P., R.G. Summers. The structure of sperm from *Panulirus*, the spiny lobster, with special regard to the acrosome. *J. Ultrastructure Res.*, 1978(64):341 ~ 351.
- [2] Lynn, J.W., W.H. Clark, Jr. The fine structure of the mature sperm of the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Bi-*

- ol. Bull., 1983(164):459 ~ 470.
- [3] 席貽龙, 谈奇坤. 日本沼虾精子的形态和超微结构研究. 水生生物学报, 1997, 21(1):59 ~ 63.
- [4] Lynn, J. W., W. H. Clark, Jr. A morphological examination of sperm-egg interaction in the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Biol. Bull., 1983a(164):446 ~ 458.
- [5] Wang, Y. F., N. S. Du, W. Lai. Cytological study on the mechanism of fertilization in *Macrobrachium rosenbergii* (Crustacea, Decapoda). 动物学报, 1998, 44(2):195 ~ 202.
- [6] 邱高峰, 堵南山, 赖伟. 日本沼虾雄性生殖系统的研究: II. 精子的形态及超微结构. 动物学报, 1996, 42(4):349 ~ 354.
- [7] Koehler, L. D. A unique case of cytodifferentiation: spermiogenesis of the prawn, *Palaemonetes paludosus*. J. Ultrastruct. Res., 1979(69):109 ~ 120.
- [8] 杨万喜, 堵南山, 赖伟. 日本沼虾高尔基体在精子发生过程中的变化. 动物学报, 1998, 44(4):377 ~ 383.
- [9] Galangan, V., O. Tuzet. L'acrosome d'*Octopus vulgaris* L. Observations au microscope électronique. C. R. H. Acad. Sci., 1968(267):1 462 ~ 1 464.
- [10] Pochon-Masson, J. Origine et formation de la vésicule du spermatozoïde d'*Eupayurus bernardus* (Decapode, Anomoure). C. R. H. Acad. Sci., 1963(261):2 226 ~ 2 228.
- [11] Kleve, L. G., A. I. Yudin, W. H. Clark, Jr. Fine structure of the unistellate sperm of the shrimp, *Sicyonia ingentis* (Naupha). Tissue & Cell, 1980, 12(1):29 ~ 45.
- [12] Shigekawa, K., W. H. Clark, Jr. Spermiogenesis in the marine shrimp *Sicyonia ingentis*. Develop. Growth Differ., 1986, 28(2):95 ~ 110.
- [13] 洪水根, 陈细法, 周时等. 长毛对虾精子发生的研究: I. 精子的形态结构. 动物学报, 1993, 39(3):239 ~ 241.
- [14] 林勤武, 刘瑞玉, 相建海. 中国对虾精子的形态结构、生理生化功能的研究: I. 精子的超显微结构. 海洋与湖沼, 1991, 22(5):397 ~ 401.
- [15] Brown, G. G. Fertilization. In: C. B. Metz, A. Monroy eds. Invertebrate. San Diego: Academic Press, 1967. I:167.

## 图版 I (Plate I) 说明

1. 精子外形, 示主体部、棘突和放射状纤丝(a morphology of sperm, showing main body, spike and radial fibril)  $\times 6\ 300$ ;
2. 精子纵切, 示细胞核、帽状体和棘突(a longitudinal section of sperm, showing nucleus, cap-shaped body and spike)  $\times 6\ 000$ ;
3. 精子凹面放大, 示胞吞作用, 吞噬泡和精荚基质中的分泌泡(magnification of the concave side of nucleus, showing the endocytosis, phagocytic vacuoles and secretory vesicles in the spermatophore matrix)  $\times 10\ 000$ ;
4. 图2的部分放大, 示不规则核膜及帽状体中的电子致密泡(magnification of part of picture 2, showing irregular nuclear membrane and electric dense vesicles in cap-shaped body)  $\times 30\ 000$ ;
5. 帽状体部分纵切, 示放射状纤丝(longitudinal section of part of cap-shaped body, showing the radial fibril)  $\times 80\ 000$ ;
6. 棘突纵切(a longitudinal section of spike)  $\times 15\ 000$ ;
7. 棘突基部横切, 示纤丝中夹有膜泡(a transverse section of the base of spike, showing the membrane vesicles among the fibrils)  $\times 40\ 000$ ;
8. 棘突中部横切(a transverse section of the middle part of spike)  $\times 35\ 000$ ;
9. 棘突近端部横切, 箭头示微管状结构(a transverse section of the approximate tip of spike, arrow notes microtubular structure)  $\times 50\ 000$ ;
10. 碱性磷酸酶定位示近核凹面处核物质呈 Gomori-CoS 阳性反应( $\rightarrow$ ) [the location of alkaline phosphatase suggests that nuclear substance near the concave side is the positive site of Gomori-CoS reaction( $\rightarrow$ )]  $\times 1\ 000$ ;
11. 酸性磷酸酶定位示帽状体和棘突呈 Gomori-PbS 反应阳性( $\rightarrow$ ) [the location of acid phosphatase suggests that the cap-shaped body and the spike are the positive sites of Gomori-PbS reaction( $\rightarrow$ )]  $\times 1\ 000$ ;

MB: 主体部(main body); SK: 棘突(spike); RF: 放射状纤丝(radial fibril); N: 细胞核(nucleus); CB: 帽状体(cap-shaped body); PV: 吞噬泡(phagocytic vacuole); SV: 分泌泡(secretory vesicle); Edv: 电子致密泡(electric dense vesicle); NM: 核膜(nuclear membrane); MV: 膜泡(membrana vesicle); PM: 质膜(plasma membrane)



图版说明见文后