

翡翠贻贝精子的超微结构

柯佳颖 饶小珍 陈寅山

(福建师范大学生物工程学院 福州 350007)

摘要:利用透射电镜研究翡翠贻贝(*Perna viridis*)精子的超微结构。精子为典型的原生型,包括头部、中段与尾部三部分。头部由顶体和细胞核组成。顶体明显突出呈倒漏斗形。亚顶体腔呈锥形,其中的亚顶体物质呈伞状分布,中轴一直延伸至核的后端。细胞核近似球形,被管状的核前窝几乎分成相似的两部分。4~5个椭圆形的线粒体围绕着中心粒复合体形成精子的中段。中心粒为中空圆柱形,具有卫星体结构。尾部细长,轴丝为典型的“9+2”结构。本文讨论了双壳类精子形态的种属间的差异。

关键词:翡翠贻贝 精子 超微结构

中图分类号:Q954 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2005)02-66-05

The Ultrastructure of Spermatozoon in *Perna viridis*

KE Jia-Ying RAO Xiao-Zhen CHEN Yin-Shan

(Bioengineering College, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China)

Abstract: The ultrastructure of spermatozoon in *Perna viridis* was observed with transmission electron microscopy. The mature sperm is typical primitive type, consisting of head, middle piece and tail. The head is composed of acrosome and nucleus. The acrosome takes a shape of upside-down funnel, with a subulate subacrosome space and umbrella-shaped distribution of subacrosomal materials which extends to the back of nucleus. The global nucleus is nearly divided into two similar parts by the tubular anterior nuclear fossa. Four or five large ellipsoidal mitochondria and two centrioles make up the middle piece. A satellite body is found at the basal part of the distal centriole. The flagellum is typical “9+2” microtubular structure. The distinction of sperm morphology between genus of dull-shucks is discussed.

Key words: *Perna viridis*; Spermatozoon; Ultrastructure

近年来,软体动物尤其是双壳类中很多种类由于具有较高的经济价值及增养殖前景,越来越受到研究人员的重视,特别是有关生殖生物学的研究十分活跃。精子的形态结构具有种的特征,不同种动物精子的形态结构差异不仅是分类的依据之一,也是分析不同动物类群之间亲缘关系的重要依据。因此为揭示软体动物发生发育的内在机制,精子超微结构的研究是必不可少的。软体动物双壳类精子超微结构的研究国外已有大量报道,国内亦有不少工作,如青蛤(*Cyclina sinensis*)^[1]、中国淡水蚌(*Novaculina chinensis*)^[2]、栉孔扇贝(*Chlamys*

farreri)^[3]和贞洁巨牡蛎(*Crassostrea virginica*)等^[4~6]。翡翠贻贝(*Perna viridis*)是热带、亚热带的暖水性双壳类动物,广泛分布于我国南海和东海南部,具有丰富的营养、经济和药用价值^[7],目前已大量人工养殖。但至今为止,国内外尚未见有关翡翠贻贝精子超微结构的研究报道。本研究对翡翠贻贝精子的超微结构进行了详细地观察,以期海洋贝类繁殖生物学积累资料 and 提供科学依据。

第一作者介绍 柯佳颖,女,硕士研究生,研究方向:动物生态学;E-mail:kejiaying2003@163.com。

收稿日期:2004-04-18,修回日期:2004-12-30

1 材料与方法

实验材料于 2003 年 10 月购自福州市程埔市场。将活体翡翠贻贝迅速解剖取出精巢组织,用 3% 戊二醛-1.5% 多聚甲醛液于 4℃ 固定 2 d,充分漂洗后,再用 1% 锇酸-1.5% 亚铁氰化钾液固定 1.5 h。漂洗,铀块染,乙醇-丙酮梯度脱水,环氧树脂 618 包埋。LKB-V 型超薄切片机切片,切片用醋酸铀柠檬酸铅双重染色,日立 Hu-12A 透射电镜观察与摄影。

2 结 果

翡翠贻贝精子为原生型,长约 45 μm ,由头部,中段与尾部三部分组成(图版 I :1)。

2.1 头部 长约 3.5 ~ 3.8 μm ,呈锥形,包括顶体与细胞核两部分。

2.1.1 顶体 位于头部最前端,向前突出呈倒漏斗型,长约 2.1 ~ 2.4 μm ,约为细胞核纵向长度的 2 倍,最宽处约 1.0 μm 。顶体外包一层连续的单位膜,按所在位置不同,可分为顶体外膜与顶体内膜。顶体内膜毗邻亚顶体腔,顶体外膜以薄层胞质与质膜相间隔。顶体内含中等电子密度的物质,同时在紧贴顶体外膜内侧另外聚集成为一圈,其密度较其他部位高,呈倒 V 字型,约为顶体纵长的 4/5。顶体与细胞核之间为亚顶体腔,呈锥形,约为顶体纵向长度的 1/3。亚顶体物质为低电子密度的絮状物,分布不均匀,在亚顶体腔中呈伞状分布,中轴一直延伸到核后窝,几乎把核分为两部分(图版 I :2)。从过亚顶体腔的横切面清晰可见(图版 I :3),顶体最外包被的质膜呈波浪状,紧贴着它的是顶体外膜,顶体中央为密度较低的亚顶体物质,外被顶体内膜;顶体外膜和顶体内膜之间为顶体物质,但在顶体外膜内侧聚集成为密度较高的一圈。

2.1.2 细胞核 近球形,直径约 1.2 μm (图版 I :4)。核内颗粒状染色质高度凝集成一致密物,可见 2 ~ 3 个透明的核泡,核的边缘往往具有缺刻。亚顶体物质贯穿于核中央,并延伸到核后窝,几乎将核分成相似的两部分,形成管状

的核前窝。核后端内陷,形成一锥形核后窝;与线粒体相邻处由于球状线粒体的嵌入,细胞核亦内陷,形成植入窝。核膜为双层膜,呈小波纹状,与质膜间有少量的细胞质。

2.2 中段 中段较短,长约 0.5 μm ,最大宽度为 1.4 μm ,由线粒体围绕中心粒复合体形成主要结构。中段横切面上最多时可见 5 个卵圆形线粒体围绕在中心粒周围(图版 I :5),线粒体大小约为 0.6 μm × 0.4 μm 。内膜向腔内折叠形成极明显的褶皱峭突,但整个线粒体的电子密度较低。中心粒复合体由相互垂直的近端中心粒和远端中心粒组成(图版 I :6),两中心粒皆为中空短圆筒状结构。近端中心粒位于精子核后窝内,长轴与精子长轴垂直,横切面由 9 组微管排列成圆形结构,直径约为 0.26 μm ;远端中心粒紧接在近端中心粒下方,长轴与精子长轴平行,长度约为 0.3 μm 。由远端中心粒的后端伸出轴丝,形成精子运动的主要器官。另外,在远端中心粒周围有 9 个辐射状电子致密物形成的中心粒卫星体(图版 I :7)。

2.3 尾部 尾部细长,约 40 μm ,由轴丝和质膜组成(图版 I :8)。包围轴丝的细胞膜呈波浪状皱褶,尾鞭细胞质覆盖较少。横切面呈圆形,直径约为 0.27 μm ,为典型的“9 + 2”型结构,由中央的两个单根微管和周围的 9 个成对微管组成(图版 I :9)。绝大多数情况下,精子的鞭毛只有一条轴丝,但本文也观察到了同一质膜包被两条轴丝的现象(图版 I :10)。

3 讨 论

3.1 精子头部 不同种间同属原生型的精子在形态结构上存在较大的差异,这种差异主要表现在头部的外形构造上。已报道的双壳类精子顶体的形态大多呈倒 V 字形或锥形,不同的是顶体的大小、长短有差异。比如青蛤精子顶体呈帽状^[1],栉孔扇贝精子的顶体呈奶嘴形^[3];中国淡水蛭精子的顶体呈“┐”形^[2]。许多种类精子亚顶体腔内还出现一些复杂的结构。在大珠母贝精子的顶体下腔中有浓缩的板层小体^[8];贞洁巨牡蛎精子的顶体下腔中有轴体存

在,是一种类似于纤维状的低电子密度束^[6]。本文所观察的翡翠贻贝精子,其顶体呈倒漏斗型,极明显的向前突出,长度约为核的2倍,这在已报道的双壳类精子中极为罕见。亚顶体物质呈伞状分布,一直延伸至核的末端,这与贻贝(*Mytilus edulis*)的结构相似。Longo 和 Domfeld^[9]指出贻贝精子顶体囊形成的同时,有轴棒(Axial rod)的形成。据研究,这些颗粒物实际是没有聚合的球状肌动蛋白(Gactin),其作用是在顶体反应中形成顶体突,协助精子进入卵内^[10,11]。李太武等人^[12]观察贻贝精子顶体分叉的基部进一步分化形成3~4层由膜包被的空泡,顶体分叉的每侧由6个左右片层构成;而我们在翡翠贻贝精子的顶体中并未观察到此结构。翡翠贻贝顶体物质的分布有其自身的特点,它在紧贴顶体外膜的内侧聚集成为密度特别高的一圈。存在这种差别可能与贻贝的系统演化及种属差异有关。

3.2 细胞核的结构 不同种类精子核的形态相差较大,区别主要在于大小及长短轴比例上,另外精核的前后端结构亦有一些不同结构。如青蛤精子细胞核呈稍弯曲的圆柱形,其纵径是横径的2倍多,核前窝不明显,核后窝十分明显^[1];大珠母贝精子的细胞核呈圆筒状,其横径大于纵径,核前窝与核后窝明显^[8]。Popham 认为核前窝的出现可能与顶体轴棒的出现有关;核后窝的发生与远端中心粒的卫星体的出现有关^[13]。有些种类的精核还有植入窝,线粒体就半嵌在其中。翡翠贻贝精核呈卵圆形,长短径近相等,在与亚顶体腔相对处内陷至核后窝几乎将核分成相近的两部分,形成管状的核前窝。这一点上与紫贻贝一致,而在其它种属中是比较少见的。同时在此精子结构中可观察到明显的核后窝和植入窝。翡翠贻贝的核膜为双层膜,呈小波纹状,这与 Frank^[9]对贻贝、曾志南^[1]对青蛤精子的观察结果不同。据他们报道,核膜虽为双层,不呈波纹状。但不排除实验条件和精子成熟度对翡翠贻贝精子质膜的影响。

3.3 线粒体数量 Franzen 认为,双壳类精子中段的线粒体数目和形态比较稳定,不同贝类

线粒体的数量有差异但变化不大^[14]。有鞭毛精子依靠尾部的运动与卵子接触,运动的能量主要来自中段的线粒体,因此,线粒体的数量是衡量精子运动能力的重要指标。一般同一种精子线粒体数目相对稳定,但也有同一贝类线粒体数量不完全相等的报道。如缢蛏精子线粒体数4~5个,偶见6个^[15];栉孔扇贝精子线粒体数目一般为4个,偶见5个^[3];贻贝精子线粒体数4~5个^[9]。在翡翠贻贝中观察到成熟精子一般具有5个较大的线粒体,但偶尔有4个线粒体的情况。线粒体数量的变化可能和种内个体生理状况相关,在种与种之间中段线粒体的数量具有种的特异性,不同科属的动物有各自的生殖适应性,其线粒体数目的多寡,同时也反映了该物种在生殖进化中的地位。

3.4 中心体相关结构 双壳类软体动物精子的中段一般由线粒体包绕两个相互垂直的中心体组成。本文观察的翡翠贻贝精子中段另一有意义的结构是中心粒卫星体(centriole satellite body),这一结构是由存在于精子中段远端中心粒周围的9个辐射状电子致密物形成的。孙惠玲^[14]在泥蚶精子中观察到了相似的结构,发现远端中心粒周围的这些呈辐射状的结构与质膜相接连,并使尾部鞭毛基部的质膜明显内陷。沈亦平和张锡元^[15]在合浦珠母贝精子的远侧中心体周围也观察到了这种结构,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。这样的结构在栉孔扇贝^[3]、大扇贝(*Pecten maximus*)^[19]等双壳贝类的精子中也有过描述。鞭毛型精子其鞭毛与头部的连接往往是非常脆弱的,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,认为其功能可能是有助于加固鞭毛与精子头部的连接,有利于精子的运动。

3.5 精子鞭毛 动物精子的细微结构和尾鞭运动的变化程度是检测海洋环境污染的指标之一^[20]。精子尾部呈细长鞭状,由轴丝和外包质膜组成。轴丝起始于远端中心粒末端,是“9 +

2'型结构。正常情况下精子尾部质膜内只有 1 条轴丝,但所观察的翡翠贻贝精子尾部有 2 根轴丝位于同一质膜的结构现象。在牡蛎精子尾部也发现有类似情况^[4];在栉孔扇贝中甚至有 3、4 条轴丝共质膜的现象^[3]。引起这一现象的原因目前还没有明确的解释。翡翠贻贝这种双轴丝的精子是一种正常的精子,还是由环境污染形成的畸形精子,尚需进一步研究。

参 考 文 献

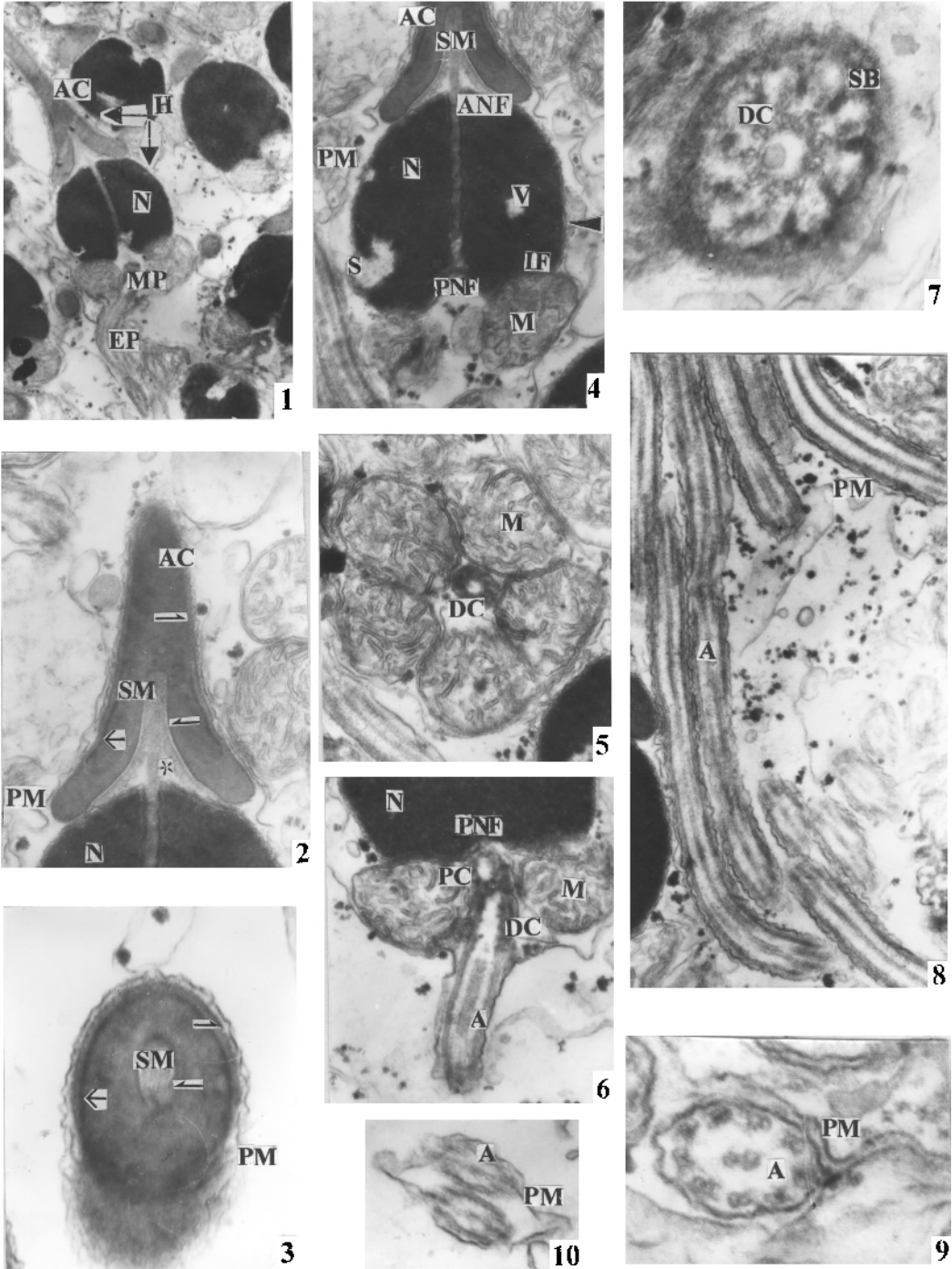
- [1] 曾志南,李复雪.青蛤精细胞分化的超微结构研究.海洋学报,1991,13(4):547~551.
- [2] 饶小珍,陈寅山,陈文列等.中国淡水蛭精子发生的超微结构研究.动物学杂志,2000,35(5):2~5.
- [3] 任素莲,王如才,王德秀.栉孔扇贝精子超微结构的研究.青岛海洋大学学报,1998,28(3):387~392.
- [4] 袁秀堂,周一兵,杨大佐.墨西哥湾扇贝精子的超微结构.动物学杂志,2003,38(4):16~19.
- [5] 郭延平,谈奇坤,陈士超.三角帆蚌精子的形态及超微结构.动物学杂志,2002,37(2):10~13.
- [6] Galtsoff P S, Philpon D E. Ultrastructure of the spermatozoon of the oyster, *Crassostrea virginica*. *J Ultrastruct Res*, 1960, 3: 241~253.
- [7] 洪鹏志,章超梓,杨文鸽等.翡翠贻贝肉酶解动物蛋白营养评价及其生理活性初探.水产学报,2002,26(1):85~89.
- [8] 杜晓东.大珠母贝精子发生超微结构变化的研究.武汉大学学报(自然科学版),1996,42(2):219~224.
- [9] Logo F J, Domfeld E J. The fine structure of spermatid differentiation in mussle, *Mytilus edulis*. *J Ultrastruct Res*, 1976, 20: 462~480.
- [10] Tilney L G, Hatano S, Ishikawa H, et al. The polymerization of actin filts in the generation of the acrosomal process of certain echinoderm sperm. *J Cell Biol*, 1973, 59: 109~126.
- [11] Tilney L G. Aggregates of nonfilamentous actin and associated protein as storage for actin. *Cell Biol*, 1976, 69: 73~89.
- [12] 李太武,苏秀榕,李春茂等.贻贝雄性生殖系统的组织学和超微结构.动物学研究,1999,20(3):168~171.
- [13] Popham J D. Comparative spermatozoon morphology and bivalve phylogeny. *J Malacol Rev*, 1979, 12: 1~20.
- [14] Franzen A. Ultrastructural studies of spermatozoa in three bivalvia species with notes on evolution of elongated sperm nucleus in primitive spermatozoa. *Gamete Res*, 1983, 7: 199~214.
- [15] 刘正琮,上官步敏,许振祖.缢蛭精子发生超微结构的研究.厦门大学学报(自然科学版),1990,29(1):31~84.
- [16] 孙慧玲,方建光,王清印等.泥蚶精子的超微结构.水产学报,2000,24(4):297~301.
- [17] 沈亦平,张锡元.合浦珠母贝精子发生过程的超微结构观察.武汉大学学报(自然科学版),1993,3: 123~129.
- [18] Thielley M, Weppe M, Herbaut C. Ultrastructural study of gametogenesis in the french polynesian black pearl oyster *Pinctada margaritifera* (Mollusca, Bivalvia). *J Shellfish Res*, 1993, 12(1): 41~47.
- [19] Drage G M, Pennec L. Ultrastructural characteristics of spermatogenesis in *Pecten maximus* (Mollusca, Bivalvia). *Invert Reprod Der*, 1989, 15(2): 109~117.
- [20] Daniels E W. Ultrastructure of spermatozoa from the American oyster *Crassostrea virginica*. *Trans Am Microsc Soc*, 1971, 90: 275~282.

柯佳颖等 翡翠贻贝精子的超微结构

图版 I

KE Jia-Ying *et al.* :The Ultrastructure of Spermatozoon in *Perna viridis*

Plate I



1. 成熟精子纵切 $\times 9600$; 2. 顶体纵切 示顶体和亚顶体腔 $\times 12000$; 3. 顶体基部横切 $\times 25260$; 4. 顶体纵切 示细胞核 $\times 17390$; 5. 精子中段横切 示远端中心粒和线粒体 $\times 17500$; 6. 精子中段纵切 示中心粒复合体 $\times 15000$; 7. 精子中段横切 示中心粒卫星体 $\times 33750$; 8. 精子尾部纵切 示轴丝和质膜 $\times 15000$; 9. 精子尾部横切 $\times 38180$; 10. 精子尾部横切 示包被于同一质膜内的两根轴丝 $\times 20220$
A 轴丝; AC 顶体; ANF 核前窝; DC 远端中心粒; EP 精子尾部; H 精子头部; IF 植入窝; M 线粒体; MP 精子中部; N 细胞核; PC 近端中心粒; PM 质膜; PNF 核后窝; S 缺刻; SB 中心粒卫星体; SM 亚顶体物质; V 核泡; \uparrow 顶体外膜; \downarrow 顶体内膜; \ast 亚顶体腔.