

西藏山溪鲵精子的形态

覃丽梅^{①②} 谢 锋^{①*} 郑中华^① 江建平^①

(① 中国科学院成都生物研究所 成都 610041; ②中国科学院研究生院 北京 100039)

摘要 : 在光学显微镜下观察和测量了西藏山溪鲵 (*Batrachuperus tibetanus*) 精子 , 结果表明 , 该物种精子具有小鲵科科精子的共同特征 : 由头、颈和尾组成。头部细直 , 颈部短而不显 , 尾部长曲 , 波动膜螺旋盘绕尾部轴棒 , 轴丝游离 , 顶体包括顶体鞘和穿孔器 , 颈部短。西藏山溪鲵精子种的特异性主要表现在量度方面 : 其全长为 $(289.85 \pm 13.02) \mu\text{m}$, 顶体长为 $(17.96 \pm 3.69) \mu\text{m}$, 头长为 $(90.84 \pm 8.33) \mu\text{m}$, 尾长 $(181.06 \pm 11.53) \mu\text{m}$, 头宽 $(2.75 \pm 0.37) \mu\text{m}$, 其头部在已知精子形态的小鲵科物种中最宽。本文为该物种的生态适应进化和系统学研究提供精子形态学依据。

关键词 : 西藏山溪鲵 精子 形态

中图分类号 : Q954 文献标识码 : A 文章编号 : 0250-3263(2005)02-71-04

Sperm Morphology of Alpine Stream Salamander , *Batrachuperus tibetanus*

QIN Li-Mei^{①②} XIE Feng^① ZHENG Zhong-Hua^① JIANG Jian-Ping^①

(① Chengdu Institute of Biology , Chinese Academy of Sciences , Chengdu 610041 ;

② Graduate School of the Chinese Academy of Sciences , Beijing 100039 , China)

Abstract Sperm shape and size of *Batrachuperus tibetanus* was examined by light microscopy. The spermatozoa share the synapomorphy characters with other genera of Hynobiidae : acrosome , head , tail and undulating membrane which coils along the flagellum. The total sperm length , acrosome length , head length , tail length and head width of *B. tibetanus* spermatozoa were $289.85 \pm 13.02 \mu\text{m}$, $17.96 \pm 3.69 \mu\text{m}$, $90.84 \pm 8.33 \mu\text{m}$, $181.06 \pm 11.53 \mu\text{m}$ and $2.75 \pm 0.37 \mu\text{m}$, respectively , which implicate that the *B. tibetanus* sperm possesses the widest head in Hynobiidae ever known. Although the specifically examined data were remarkably variable in Hybobiidae , the basic morphology and relative lengths were similar to one another in geographically variable groups. Therefore , the sperm morphology can be used in taxonomic study and offers some spermatological cues to systematic evolution of Hynobiidae.

Key words : *Batrachuperus tibetanus* ; Spermatozoa ; Morphology

西藏山溪鲵 (*Batrachuperus tibetanus*) 又名衫木鱼、羌活鱼、娃娃鱼、山辣子 , 隶属有尾目 (Urodela) 小鲵科 (Hynobiidae) 山溪鲵属 , 是一种适应于高原或高山的冷溪性有尾两栖动物 , 多分布在海拔 3 000 m 以上的山溪内 , 但在四川省一些偏北的地区 , 其分布区域的海拔较低 , 为 1 600 ~ 1 850 m。该物种皮肤光滑 , 头侧有凹陷 , 背面有斑或无斑 , 雄鲵尾长远大于头体长 ,

雌鲵反之。它有重要的药用价值 , 为我国珍稀的经济两栖动物^[1]。我国学者对其形态、生态、

基金项目 国家自然科学基金 (No. 30240081) 中国科学院知识创新工程项目 (No. KSCX2-1-03) 四川省科技厅重点科技项目资助 ;

* 通讯作者 , E-mail : xiefeng@cib.ac.cn ;

第一作者介绍 覃丽梅 , 女 , 硕士研究生 , 研究方向 : 动物学 ;

E-mail : qinlm@cib.ac.cn。

收稿日期 : 2004-09-38 , 修回日期 : 2005-01-10

分类、分布^[2~5]和繁殖生物学方面,如繁殖生态及早期胚胎发育、生殖腺的季节变化^[6~8]已开展了广泛的研究,但在生殖细胞发育和形态学方面的报道不多。在山溪鲵属中,目前仅见贾林芝^[9]报道过山溪鲵(*B. pinchonii*)卵巢滤泡细胞的超微结构,郑中华^[10]报道过龙洞山溪鲵(*B. longdongensis*)精子形态结构。西藏山溪鲵精子形态学方面迄今尚无报道,本文描述并讨论了西藏山溪鲵精子的形态,目的是通过精子的形态结构研究,探讨该物种的繁殖生物学规律,并结合前人对小鲵科物种精子形态的研究成果,阐述小鲵科种属间在精子系统发育学方面的区别和联系,为两栖动物系统分类研究提供精子形态学方面的证据。

1 材料与方法

1.1 样品的采集、制备 实验用西藏山溪鲵采自四川理县 3 000 m 左右的山间溪流中。精子材料采集参照 Kuramoto^[11]和郑中华^[12]的方法:取性成熟的雄性西藏山溪鲵($n = 3$),用双毁髓法从枕骨大孔进针探入脑腔破坏其中枢神经系统。待其四肢瘫软、无力反抗时,沿腹部剖取辜

丸,去掉周围所附着的结缔组织,用蒸馏水(或去离子水)清洗干净,剪破,加入 10% 甲醛固定液,再用细棒轻轻挤压、搅拌,静置片刻后,用吸管吸取上层精子悬浮液涂片,待其自然干燥后,用苯胺蓝染色 3 min,在 ZEISS Axioplan 2 imaging 光学显微镜下观察、拍照并测量。

1.2 精子的测量和数据统计 用光学显微镜成相并输入电脑,所获精子照片用 Axio Vision 4.0 软件进行测量。为方便与已报道的小鲵科^[11,13]精子形态进行比较,本文采用 Kuramoto^[11]的方法:精子的顶体单独测量即头长不包括顶体长,精子的尾长包括颈部、轴棒和游离状轴丝长度之和。所得数据用 SPSS 软件进行初步的统计分析。

2 结 果

西藏山溪鲵精子量度见表 1。
西藏山溪鲵的精子由头、颈和尾构成(图 1)。头部细长,往前渐窄,多数精子头部较直,少数微弯或呈弧形;尾部主要由轴棒、波动膜、轴丝构成,尾部长于头部,呈弯曲状,少数卷曲成环状;波动膜螺旋盘绕在轴棒上,轴丝游离于

表 1 西藏山溪鲵和龙洞山溪鲵精子各部位量度比较

物种	精子量度(μm \bar{x} $n = 15$)					资料来源
	顶体	头长	尾长	总长	头宽	
西藏山溪鲵 <i>Batrachuperus tibetanus</i>	17.96 \pm 3.69 (6.0%)	90.84 \pm 8.33 (31.0%)	181.06 \pm 11.53 (62.0%)	289.85 \pm 13.02	2.75 \pm 0.37	本实验
龙洞山溪鲵 <i>B. longdongensis</i>	13.59 \pm 1.52 (5.2%)	101.70 \pm 5.10 (39.2%)	144.40 \pm 3.53 (55.6%)	259.39 \pm 4.82	1.73 \pm 0.10	郑中华 ^[11]

百分比为精子各部与精子总长之比

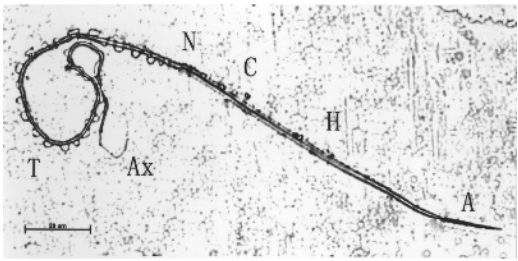


图 1 西藏山溪鲵精子的光学显微镜照片
A 顶体, Ax: 轴丝, C 胞质小团,
H 头部, N: 颈部, T 尾部

轴棒外。波动膜的螺旋间隔十分整齐有序,但近轴丝部分开始变得松散,游离的轴丝成波状,无螺旋结构。头部顶端有顶体(acrosome),其与头部连接点较窄,据此特点可区分顶体和头部。顶体由顶体鞘(acrosomal sheath)或称顶体帽(acrosomal cap)和穿孔器(perforatorium)两部分组成。穿孔器细长如针,前后粗细均匀,为顶体的内部结构(图 2 中 P 所示)。在头部有胞质小团散布于头部各处,或呈球形,或为椭圆形;西藏山溪鲵

精子颈部短,较头部细,与尾部直径相当,故不易区分,颈部的判断依据为头颈连接处变窄,稍有折且无波动膜。



图2 西藏山溪鲵精子穿孔器和颈部的
光学显微镜照片
P:穿孔器;N:颈部

3 讨 论

3.1 西藏山溪鲵和小鲵科其他属、种精子形态和量度的比较 对小鲵科物种精子的研究已经有较多报道,Kuramoto^[11-13]对极北鲵属(*Salamandrella*)的极北鲵(*S. keyserlingii*)、爪鲵属(*Onychodactylus*)的日本爪鲵(*O. japonicus*)、小鲵属(*Hynobius*)的云斑小鲵(*H. nebulosus*)、黑小鲵(*H. nigrescens*)、黑疣小鲵(*H. naevius*)、邓氏小鲵(*H. dunni*)、对马小鲵(*H. tsuensis*)、费氏小鲵(*H. lichenatus*)、滞育小鲵(*H. retardatus*)、琥珀小鲵(*H. stejnegeri*)和布氏小鲵(*H. boulengeri*) 9 个物种进行过研究,郑中华^[12]曾报道山溪鲵属的龙洞山溪鲵精子的形态结构。本文结合已知的小鲵科其他属物种精子研究成果,发现西藏山溪鲵的精子形态结构符合本

科物种精子的一般特征:1)精子主要分头、颈和尾部;2)头部具锥形顶体;3)尾部包括轴棒、螺旋盘绕轴棒的波动膜及轴丝;4)颈部短,不明显。虽然西藏山溪鲵的精子在形态上和本科其他物种的精子相似,但是在量度方面却显示出种的特异性。从与近缘物种龙洞山溪鲵精子比较来看(表1),西藏山溪鲵有相对较长的尾部(分别占全长的62.0%和55.6%);不仅如此,西藏山溪鲵的顶体和头宽的度量也比龙洞山溪鲵的大,但头长短于龙洞山溪鲵(前者只占后者的89.3%)。可见龙洞山溪鲵精子特征是头部窄长,尾部较短;西藏山溪鲵精子则是头部宽短,尾部细长。

在已知的小鲵科其他属物种精子的绝对量度中,小鲵属的顶体最长(19.57 μm);爪鲵属的头长(203.70 μm)、尾长(337.20 μm)和总长(549.80 μm),是小鲵科中最长的,和本科其他属物种精子的差异较大。山溪鲵属的头部是小鲵科里最宽的(2.24 μm);虽然小鲵科不同属间物种精子各部位的绝对长度均有差异,但它们各部的相对长度差异却不大(表2),如头长为33.55%(30.8%~37.0%),尾长为60.23%(59.2%~61.3%);极北鲵属和小鲵属精子各部位量度均比较相似,如两属的相对头长分别为31.3%和30.8%。这说明不同类群的小鲵科物种精子有科的同源性。

本实验发现小鲵科精子头部最宽的是西藏

表2 小鲵科4属精子参数比较

属	精子量度(μm)			
	顶体	头长	尾长	总长
山溪鲵属 <i>Batrachuperus</i>	15.78 ± 3.09(5.7%)	96.27 ± 7.67(35.1%)	162.58 ± 26.13(59.2%)	274.62 ± 21.54
小鲵属 <i>Hynobius</i>	19.57 ± 2.09(9.4%)	64.42 ± 14.76(30.8%)	125.04 ± 21.89(59.8%)	209.03 ± 37.02
爪鲵属 <i>Onychodactylus</i>	14.40 ± 0.80(2.6%)	203.70 ± 4.90(37.0%)	337.20 ± 16.60(61.3%)	549.80 ± 19.70
极北鲵属 <i>Salamandrella</i>	17.10 ± 0.80(8.1%)	66.50 ± 2.00(31.3%)	128.80 ± 4.40(60.6%)	212.40 ± 5.20

百分比为精子各部位的相对长度,相关数据来源于Kuramoto^[11-13]、郑中华^[10]。

山溪鲵(2.75 μm)(图3),较本科其他物种差异较大;其次是龙洞山溪鲵(1.73 μm);最窄的是邓氏小鲵(0.86 μm)。总体来看,山溪鲵属精子头部也较其他属物种精子宽,和其他同科物种

差异较大,但其功能特点和生态适应意义仍有进一步研究的必要。

Kuramoto^[11]认为小鲵属物种精子各部位量度的差异与其生活环境有关系:生活在山间

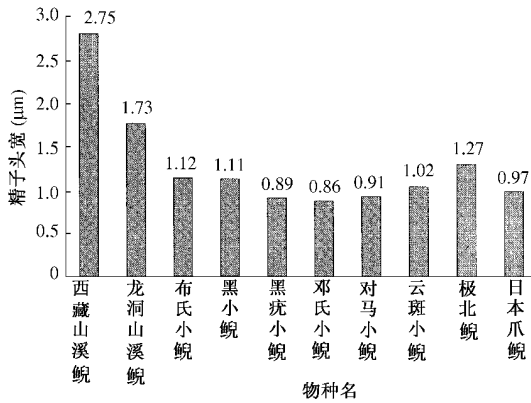


图3 小鲵科部分物种精子头部宽度比较

数据来源于 Kuramoto^[11, 13]

溪流的物种,其精子要比生活在静水的长,这也解释了黑疣小鲵($272.7 \pm 5.50 \mu\text{m}$)、邓氏小鲵($249.80 \pm 8.70 \mu\text{m}$)的精子要比云斑小鲵($177.90 \pm 5.50 \mu\text{m}$)和黑小鲵($163.40 \pm 3.90 \mu\text{m}$)长的原因。Mori^[14]也报道过山区溪流物种比睿山小鲵(*H. kimurae*)精子很长,达 $373.80 \mu\text{m}$ 。本实验中西藏山溪鲵属高山冷溪性两栖动物,因此其精子也相对较长,此结果支持本科内溪流物种精子相对较长的推论。

3.2 胞质小团 Kuramoto^[11, 13]观察到小鲵科部分物种精子头部后段存在胞质小团(cytoplasmic droplet),郑中华^[10]报道过山溪鲵属的龙洞山溪鲵精子头部中段或后段存在胞质小团。本实验在西藏山溪鲵精子头部中后段也观察到相同结构,但 Picheral^[15]在观察云斑小鲵精子头部的时候没有发现线粒体,他认为精子运动的能量来源可能是围绕头部的原生质团(protoplasmic beads)。但本文认为在光学显微镜下胞质小团和“原生质团”在形态上是相同的,固认为 Picheral 观察到的“原生质团”正是胞质小团。本实验结果与 Kuramoto 和郑中华的观察相同,但是否所有小鲵科物种的精子头部都有胞质小团有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 叶昌媛,费梁,胡淑琴. 中国珍稀及经济两栖动物. 成都:四川科学技术出版社,1993.
- [2] 费梁,叶昌媛,田婉淑. 山溪鲵属的分类探讨及一新种的描述. 动物分类学报,1983, 8(2):209~219.
- [3] 赵尔宓. 山溪鲵属的分类与分布. 见:中国科学院青藏高原综合科学考察队主编. 横断山考察专集(一). 昆明:云南人民出版社,1983, 293~298.
- [4] 赵尔宓,张服基. 北鲵属 *Ranodon*、山溪鲵属 *Batrachuperus*、巴鲵属 *Liua* 和异鲵属 *Xenobius* 骨骼的比较研究及其系统发育探讨. 两栖爬行动物学报,1985, 4(3):209~218.
- [5] 徐剑. 西藏山溪鲵生态的初步观察. 西北师范大学学报,1993, 29(3):70~72.
- [6] 徐剑,陈鉴潮. 西藏山溪鲵繁殖生态的初步观察. 动物学杂志,1992, 27(5):33~36.
- [7] 徐剑,崔建华. 西藏山溪鲵早期胚胎发育的初步观察. 兰州大学学报(自然科学版),1993, 29(2):131~134.
- [8] 徐剑. 西藏山溪鲵生殖腺的季节性变化. 动物学杂志,1995, 30(3):47~49.
- [9] 贾林芝,张育辉. 山溪鲵卵巢滤泡细胞的显微与超微结构. 动物学研究,2000, 21(5):419~421.
- [10] 郑中华,江建平,谢锋等. 龙洞山溪鲵精子形态研究. 两栖爬行动物学研究,2002, 9:4~9.
- [11] Kuramoto M. Scanning electron microscopic studies on the spermatozoa of some Japanese salamanders (Hynobiidae, Cryptobranchidae, Salamandridae). *Jpn J Herpetol*, 1995, 16(2):49~58.
- [12] 郑中华,谢锋,费梁等. 镇海棘螈和大凉疣螈精子形态研究. 两栖爬行动物学研究,2000, 8:228~232.
- [13] Kuramoto M. Further studies on sperm morphology of Japanese salamanders, with special reference to geographic and individual variation in sperm size. *Japanese Journal of Herpetology*, 1997, 17(1):1~10.
- [14] Mori K. Ueber die struktur der amenfäden bei einigen Urodelen. *Nagasaki J Med Soc*, 1936, 14(2):125~132.
- [15] Picheral B. Structural, comparative, and functional aspects of spermatozoa in urodeles. In: Fawcett D W, Bedford J M eds. *The Spermatozoon*. Baltimore: Urban and Schwarzenberg, 1979, 267~287.