

## 金乌贼精子的超微结构

刘长琳<sup>1</sup> 邹 健<sup>1</sup> 刘君刚<sup>2</sup> 庄志猛<sup>1</sup> 陈四清<sup>1\*</sup> 刘春胜<sup>1</sup> 孙建明<sup>1</sup> 王晓华<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

(<sup>2</sup> 青岛市渔业技术推广站, 266071)

**摘 要** 应用扫描电镜和透射电镜观察了金乌贼精子的超微结构。结果表明, 精子全长为 191.84 $\mu\text{m}$  ( $n=10$ ), 由头部和尾部组成。其中, 头部主要由顶体和细胞核组成, 尾部分为中段、主段和末段 3 个部分。头部顶体为呈倒“U”字形的囊状体, 亚顶体腔呈  $\cap$  形。细胞核细长, 呈圆柱状, 稍弯曲, 为高电子密度的均质结构。核后窝偏离细胞核中心位置。尾部中段较长, 由线粒体距及其不完全包围的鞭毛组成。线粒体距分为上段和下段, 上段含较多线粒体, 下段无线粒体。尾部鞭毛主段细长, 由“9+2”结构的轴丝及外围 9 束粗纤维组成, 构成典型的“9+9+2”结构。

**关键词** 金乌贼 精子 超微结构

**中图分类号** Q954.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2011)03-0001-06

## Ultrastructure of the spermatozoon of *Sepia esculenta* Hoyle

LIU Chang-lin<sup>1</sup> ZOU Jian<sup>1</sup> LIU Jun-gang<sup>2</sup> ZHUANG Zhi-meng<sup>1</sup>  
CHEN Si-qing<sup>1\*</sup> LIU Chun-sheng<sup>1</sup> SUN Jian-ming<sup>1</sup> WANG Xiao-hua<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, Yellow Sea Fisheries

Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

(<sup>2</sup> Qingdao Centre of Popularization of Fisheries Technology, 266071)

**ABSTRACT** Ultrastructure of the spermatozoon of *Sepia esculenta* Hoyle was observed by scanning and transmission electron microscopy. The sperm is 191.84 $\mu\text{m}$  ( $n=10$ ) long and consists of two parts, the head and the tail. The head is mainly composed of acrosome and nucleus, and the tail includes the middle piece, the principal piece, and the end piece. The acrosome was an inverted U-shaped cystid, and the subacrosomal space was  $\cap$ -shaped. The nucleus was long, slightly curved and cylindrical-shaped, and was filled with homogeneous texture with high electron density. The posterior nuclear fossa diverged from the center of the nucleus. The middle piece of the tail is very long and consists of mitochondria spur and flagellum incompletely encircled. The mitochondria spur includes two parts, the proximal part and the distal part. The proximal part contained a great amount of mitochondria, while the distal part contained no mitochondria. The principal piece of flagellum is slender, and is composed of a “9+2” axoneme surrounded by nine bundles of coarse fibers, and it formed the typical structure of “9+9+2”.

国家高科技研究发展计划(863 计划)(2010AA10A404)、青岛市科技发展计划(07-1-4-12-hy)和黄海水产研究所基本科研业务费项目(2010-ts-02)共同资助

\* 通讯作者。E-mail: chensq@ysfri. ac. cn, Tel: (0532)85830494

收稿日期: 2010-10-20; 接受日期: 2010-12-06

作者简介: 刘长琳(1978-), 男, 助理研究员, 主要从事鱼类繁殖生物学及增养殖技术研究。E-mail: liuchl@ysfri. ac. cn, Tel: (0532)85830494

**KEY WORDS** *Sepia esculenta* Hoyle Golden cuttlefish Spermatozoon  
Ultrastructure

动物精子形态结构的研究是生殖细胞的结构与机能研究的重要组成部分,是发育生物学的一个重要研究内容(高悦勉等 2007)。精子形态结构的差异不仅是动物分类的依据,也是分析不同动物类群之间亲缘关系的重要依据(叶素兰等 2009)。关于头足类精子超微结构研究,国外报道较多(Franzen 1967; Healy 1989; Ribes *et al.* 2002; Gimenez-Bonafe *et al.* 2002),国内仅对嘉庚蛸 *Octopus tankahkeei*(竺俊全等 2006; Zhu *et al.* 2005)和曼氏无针乌贼 *Sepiella maindroni*(叶素兰等 2008,2009)精子及精子发生的超微结构进行过报道。这些资料对头足类精子顶体的发达程度及形态结构差异、尾部中段结构特征、线粒体数目及排列方式、细胞核的形态、精子类型等进行了深入探讨,为研究头足类物种间的亲缘关系、系统分类提供了有力的证据。

乌贼曾是中国渔场的“四大渔业”之一,金乌贼 *Sepia esculenta* (Hoyle)是其中重要的资源,但目前资源量锐减,几近枯竭。最近几年,对金乌贼资源增殖的研究已经引起了科研工作者的高度重视,关于金乌贼生活习性、繁殖行为等基础研究已逐渐展开(郝振林等 2007;陈四清等 2008,2010;刘长琳等 2009),但关于金乌贼精子超微结构的研究迄今为止未见报道。本文采用扫描电镜和透射电镜对金乌贼精子的超微结构进行了研究,以期丰富其繁殖生物学资料,为金乌贼繁育技术提供理论依据和参考资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验用的6尾金乌贼雌性亲体为2010年5~7月采购于青岛沿海野生群体,体重643~863 g,胴长192~206 mm。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 成熟精子的获得

活体解剖,迅速取出精荚,放入玻璃器皿中,加入过滤海水使成熟精子释放出来。然后用吸管吸取精液,放入离心管中,200 r/min 低速离心5 min,弃去沉淀,取上清液,3 000 r/min 离心5 min,弃去上清液,加入预冷的2.5%戊二醛(0.2 mol/L PBS 配制,pH 7.2,4 °C)固定。

#### 1.2.2 扫描电镜样品的制备

将样品于2.5%戊二醛中固定4 h,PBS 缓冲液漂洗。酒精梯度脱水,乙酸异戊脂置换。Eiko 公司 XD-1 型二氧化碳临界点干燥器干燥,Eiko 公司 IB-3 型离子镀金仪喷金镀膜。JEOL 公司 JSM-840 扫描电镜观察。

#### 1.2.3 透射电镜样品的制备

将样品于2.5%戊二醛中固定4 h,PBS 缓冲液冲洗,1%锇酸4 °C 固定2 h。PBS 缓冲液冲洗后,乙醇系列梯度脱水,Epon812 环氧树脂包埋。UltracutE 超薄切片片机半薄切片,甲苯胺蓝染色,半薄定位。醋酸双氧铀硝酸铅染色。JEOL 公司 JEM-1200EX 透射电镜观察。

## 2 结果

### 2.1 扫描电镜观察

金乌贼精子为鞭毛型精子,全长为191.84  $\mu\text{m}$ ( $n=10$ ),由头部和尾部组成,尾部分为中段、主段和末段3个部分(图1-1、图1-2)。

金乌贼精子头部细胞核呈圆柱形,纵轴长7.83  $\mu\text{m}$ ( $n=10$ ),横轴长2.23  $\mu\text{m}$ ( $n=10$ )。尾部中段线粒体距(Mitochondrial spur)纵轴长3.6  $\mu\text{m}$ ( $n=10$ ),直径约为细胞核的一半,颜色比细胞核亮白(图1-3、图1-4)。尾部主段鞭毛前后粗细基本一致(图1-4),到末段逐渐变细(图1-1)。

## 2.2 透射电镜观察

### 2.2.1 头部(Head)结构

金乌贼精子头部呈稍弯的长柱状(图 1-5),主要结构包括顶体、亚顶体腔、细胞核和核后窝。

#### 2.2.1.1 顶体(Acrosome)

顶体位于头部最前端,顶端光滑,为倒“U”字形的囊状体,与细胞核的纵轴呈一定角度倾斜,角度约为 50 度(图 1-5)。顶体长度为  $1.24 \mu\text{m}(n=10)$ ,宽度为  $0.88 \mu\text{m}(n=10)$ (图 1-6)。顶体的横切面呈圆形或卵圆形,顶体双层囊膜结构明显(图 1-7),下缘能够覆盖细胞核前端(图 1-6、图 1-9)。

#### 2.2.1.2 亚顶体腔(Subacrosomal space)

顶体的后端与核相接触的部分向顶体内凹陷形成亚顶体腔(图 1-6)。亚顶体腔呈  $\cap$  形,顶端较平,凹入顶体深度约为  $0.21 \mu\text{m}$ ,为顶体长度的  $1/4\sim 1/3$ ,平均宽度为  $0.46 \mu\text{m}$ ,约为顶体宽度的  $1/2$ 。亚顶体腔的横切面为圆形或卵圆形,与顶体腔、细胞核前端近似同心圆(图 1-8、图 1-9)。亚顶体腔内的物质与顶体内的物质结构相似,但电子密度较高。

#### 2.2.1.3 细胞核(Nucleus)

细胞核细长,呈圆柱状,平均直径为  $0.67 \mu\text{m}(n=10)$ ,稍弯曲,稍凸的一面称其为背部,稍平直的一面为腹部(图 1-1、图 1-5)。核内染色质凝集成高电子密度的均质状态,无核周微管(图 1-10)。细胞核前端无核前窝,横切面呈圆形或椭圆形,且能够同时看到顶体腔、亚顶体腔和细胞核(图 1-9)。

#### 2.2.1.4 核后窝(Posterior nuclear fossa)

在细胞核的后端与中心粒相邻处细胞核有内陷,形成核后窝,但未纵深成核内沟,平均直径为  $0.2 \mu\text{m}$ ,核后窝偏离细胞核的中心位置(图 1-11),由远端中心粒形成的基体位于该窝内,尾部鞭毛由此发出(图 1-12)。

### 2.2.2 尾部(Tail)结构

金乌贼精子尾部细长,为精子的运动器官,长度占精子全长的 95% 以上,分为中段、主段和末段 3 个部分。

#### 2.2.2.1 中段(Middle piece)

中段位于细胞核的后端,由线粒体距(Mitochondrial spur)和鞭毛组成(图 1-12~图 1-16),线粒体距呈耳状不完全包围鞭毛。线粒体距较长,可明显分为上段(图 1-12)和下段(图 1-16)两部分,上段线粒体距一侧肥大,内含体积较大、内嵴明显、未相互融合的多个线粒体,另一侧无线粒体,且不完全包围鞭毛(图 1-13)。线粒体距横切面上可观测到 11~12 个线粒体,线粒体所在区域周长约占横截面周长的  $4/5$ 。鞭毛偏向于线粒体距的一侧,轴丝是典型的“9+2”结构,轴丝外围有 9 束间距相等的粗纤维包绕,形成“9+9+2”的鞭毛结构。此外在线粒体距包围的空腔中还发现 1~2 个电子致密物质(图 1-13)。线粒体距上段向后线粒体数目逐渐减少(图 1-14),过渡到线粒体距下段。线粒体距下段较薄,但厚薄一致,成为裙边状质膜不完全包围在鞭毛外面,内无线粒体,但存在着大量的颗粒物质(图 1-15、图 1-16)。线粒体距下段不对称,一侧较长,一侧较短(图 1-16)。

#### 2.2.2.2 主段(Principal piece)

尾部主段细长,平均直径为  $0.28 \mu\text{m}$ ,与中段相连。主段由轴丝、粗纤维和质膜组成,是典型的“9+9+2”型鞭毛结构(图 1-17、图 1-18)。粗纤维直径约为  $0.08 \mu\text{m}$ ,是轴丝直径的两倍。鞭毛细胞质较少,未见侧鳍和囊泡存在。

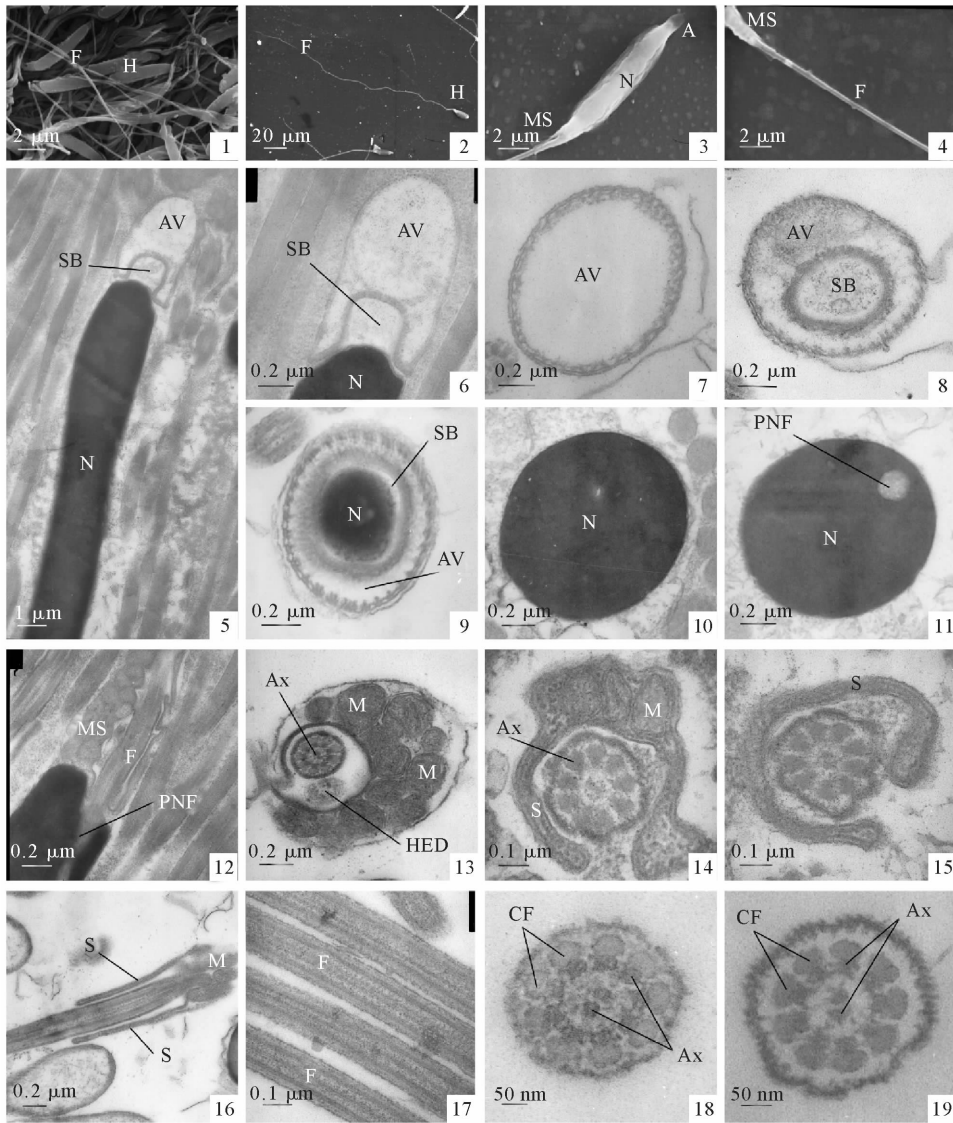
#### 2.2.2.3 末段(End piece)

末端鞭毛逐渐变细,细胞质逐渐增多,粗纤维逐渐变细(图 1-19),直至完全消失,最终鞭毛轴丝仅为单一微管。

## 3 讨论

### 3.1 头足类精子头部的微细结构比较

精子的形态主要取决于精子头部顶体和细胞核部分的形状以及亚顶体腔和核后窝的结构(高悦勉等 2006)。在头足类动物中,顶体的形态结构已发现有 4 种类型:(1)圆屋顶形,如十腕目的曼氏无针乌贼 *Sepiella*



1、2. 精子形态；3. 精子头部；4. 精子尾部；5、6. 精子头部纵切；7. 顶体横切；8. 亚顶体腔横切；9. 细胞核前端横切；10. 细胞核横切；11. 细胞核后端横切；12. 精子纵切；13、14. 精子尾部中部横切；15. 线粒体距下段横切；16. 线粒体距下段纵切；17. 精子尾部主段纵切；18. 精子尾部主段横切；19. 精子尾部末段横切

A: 顶体；AV: 顶体腔；Ax: 轴丝；CF: 粗纤维；F: 鞭毛；H: 头部；HED: 电子致密物质；M: 线粒体；MS: 线粒体距；N: 细胞核；PNF: 核后窝；S: 裙边状质膜；SB: 亚顶体腔

1, 2. Morphology of the sperm; 3. Head of the spermatozoon; 4. Tail of the spermatozoon; 5, 6. Longitudinal section of sperm at head; 7. Cross section of sperm at acrosome; 8. Cross section of subacrosomal space; 9. Cross section of nucleus in front; 10. Cross section of nucleus; 11. Cross section of nucleus at end; 12. Longitudinal section of sperm; 13, 14. Cross section of sperm at mid-piece of tail; 15. Cross section of mitochondrial spur at underside; 16. Longitudinal section of mitochondrial spur at underside; 17. Longitudinal section of sperm at principal piece of tail; 18. Cross section of sperm at principal piece of tail; 19. Cross section of sperm at end piece of tail

A: Acrosome; AV: Acrosomal Vesicle; Ax: Axoneme; CF: Coarse Fibre; F: Flagellum; H: Head; HED: Object With High Electron Density; M: Mitochondrion; MS: Mitochondrial Spur; N: Nucleus; PNF: Posterior Nuclear Fossa; S: Membrane Skirt; SB: Subacrosomal fossa

图 1 金乌贼精子的超微结构

Fig. 1 Ultrastructure of the spermatozoon of *S. esculenta* Hoyle

*main-dron* (叶素兰等 2009)、欧洲横纹乌贼 *Eusepia officinalis* 和枪乌贼目的 *Loligo forbesi*、*Alloteuthis subulata* (Maxwell 1975); (2) 细长狭窄形, 如耳乌贼目的太平洋僧头乌贼 *Rossia pacifica* 和 *Rossia macrosoma*

(Fields *et al.* 1976; Hou *et al.* 1992)及旋壳乌贼 *Spirula* (Healy 1990a);(3)具相等间隔横纹的长锥形,如八腕目的真蛸 *Octopus vulgaris* (Ribes *et al.* 2002);(4)具相等间隔横纹的螺旋形嵴突的钻头形,如 *Eledone cirrhosa* (Ribes *et al.* 2002)和嘉庚蛸(竺俊全等 2006)。金乌贼精子的顶体为呈倒“U”字形的囊状体,顶端圆滑,属于圆屋顶形,但与圆屋顶形种类存在一定的差异,如曼氏无针乌贼顶体顶端中部稍突起,但金乌贼顶体顶端圆滑。由此可见,头足类顶体形态结构差异、横纹结构的有无等可以作为头足类动物种间分类的依据,同时还可作为探讨种间联系与亲缘关系分析的依据(叶素兰等 2009)。

头足类精子细胞核的形态主要分为6种类型:(1)稍弯的长柱状纺锤形,如十腕目的曼氏无针乌贼(叶素兰等 2009)、欧洲横纹乌贼、枪形目的 *Loligo forbesi*、*Alloteuthis subulata* (Maxwell 1975)以及耳乌贼目的太平洋僧头乌贼(Fields *et al.* 1976; Hou *et al.* 1992);(2)直的圆柱形,如旋壳乌贼和耳乌贼目的 *Heteroteutnis* 的细胞核(Healy 1990a);(3)简单的柱状,如八腕目酢蛸 *Octopus dofleini* (Mann *et al.* 1970)和嘉庚蛸(竺俊全等 2006);(4)细的长柱状,如真蛸(Healy 1990b);(5)具有多个几何螺旋的特长型,如 *Eledone cirrhosa* 的细胞核(焦海峰等 2004);(6)具有核前窝的短纺锤形核,如幽灵蛸目的 *infernalis* (Healy 1990b)。金乌贼精子细胞核细长,呈圆柱状,稍弯曲,与以上6种细胞核类型差异较大,因此是头足类精子中的一种新的细胞核类型。Healy(1990a)认为直的细胞核是由弯曲的细胞核进化而来,因此金乌贼精子在头足类精子中相对较低等。

头足类精子核后窝可分为3种类型:(1)核后窝不发达,未纵深成核内沟,且偏离细胞核的中心位置,如曼氏无针乌贼(叶素兰等 2009)、*Sepia eusepia* (Maxwell 1975)等;(2)核后窝较发达,在细胞核后端中心位置纵深成宽大的密度沟,如幽灵蛸目的 *Infernalis* (Healy 1990b);(3)核后窝较发达,在细胞核后端纵深成细长的核内沟,如八腕目的 *Octopus* 和 *Eledone* (Healy 1990a)。由本研究的观察结果可知,金乌贼精子的核后窝属于第1种类型。由于核后窝在精子运动中起到关节窝的作用,以减少鞭毛运动时对精子头部的震动(吴莹莹 2008),因此可初步推断以上3种类型的头足类精子在精子运动以及受精方式方面存在一定的差异。

### 3.2 头足类精子尾部的微细结构比较

综合已知资料,头足类尾部中段结构主要分为线粒体距、线粒体鞘(Mitochondrial sheath)和线粒体袖套(Mitochondrial sleeve)3种类型。(1)线粒体距:长柱状,显著特征是不完全包围鞭毛,如曼氏无针乌贼(叶素兰等 2009)、十腕目的欧洲横纹乌贼、枪形目的 *Loligo forbesi*、*Alloteuthis subulata* (Maxwell 1975)、耳乌贼目的太平洋僧头乌贼(Fields *et al.* 1976; Hou *et al.* 1992);(2)线粒体鞘:长柱状,完全包围鞭毛,线粒体的排列方向与尾部轴丝平行,如八腕目的 *Octopus* (Healy 1990a,b)、*Eledone* (Healy 1990a,b)、嘉庚蛸(竺俊全等 2006);(3)线粒体袖套:完全包围鞭毛,线粒体的排列方向与尾部轴丝不平行,如旋壳乌贼 *Spirula spirula* 和耳乌贼目的 *Heteroteutnis* (Healy 1990a,b)。金乌贼精子线粒体距较长,呈耳状不完全包围鞭毛,属于第1种类型。Healy(1990a)认为线粒体袖套是由线粒体距进化而来,由此进一步说明金乌贼精子在头足类中精子中属于相对低等类型。

金乌贼线粒体距明显分为上段和下段两部分,上段线粒体距肥大,厚薄不均,所含线粒体数目较多;下段较薄,但厚度一致,成为裙边状,质膜不完全包围在鞭毛外面,内无线粒体,但存在着大量的颗粒物质,叶素兰等(2009)认为该颗粒物质为糖原颗粒。金乌贼精子线粒体距的结构与硬骨鱼类中的尼罗罗非鱼 *Tilapia nilotica* 精子袖套的结构颇为相似(尤永隆等 1998)。尼罗罗非鱼精子袖套可以分为上段和下段。上段袖套较厚,含有线粒体、多余的核膜和双层膜构成的囊泡;下段袖套很薄,没有线粒体和囊泡,仅有极薄的一层细胞质。尤永隆等(1998)认为尼罗罗非鱼上段袖套的肥厚一侧为精子的腹面,薄的一侧为精子背面。据此推测金乌贼线粒体距肥厚的一侧为精子腹面,不完全包围鞭毛的一侧为其背面。这与金乌贼和曼氏无针乌贼(叶素兰等 2009)细胞核稍平直的一面为腹部,稍凸的一面称其为背部的结论一致。金乌贼线粒体距的背腹面的结构差异可能更有利于精子的运动,也可能与其受精方式有关,其功能有待进一步研究。

叶素兰等(2009)将曼氏无针乌贼具有线粒体的线粒体距上段划分到尾部中段,线粒体消失后的下段划分到尾部主段。金乌贼精子在扫描电镜下,细胞核与线粒体距粗细、颜色差异明显,线粒体距较细且颜色亮白,只有在透射电镜下才能观测到线粒体距中线粒体消失与否,因此通过综合扫描电镜和透射电镜的观测结果,将金

乌贼线粒体距全部划分到尾部中段。

此外在金乌贼线粒体距上段包围的空腔中发现了1~2个电子致密物质。同样在曼氏无针乌贼尾部中段也发现两个电子致密物质,该物质在中段位置有差异,有时离核较近,有时则较远,有时偏于核的背面,有时则偏于腹面,横切面观察呈圆形(叶素兰等 2009)。本文认为该结构应是远端中心粒后端外围发出的辐射状电子致密带,类似于青蛤 *Cyclina sineusi* (高悦勉等 2007)、褶纹冠蚌 *Cristaria plicata* (Leach) (邓道贵等 2001)的鞭毛领结构(Flagellar collar),其作用是为了加强尾部鞭毛与中段之间的连接,从而增加远端中心粒、鞭毛和质膜间的牢固性。

## 参 考 文 献

- 邓道贵,谈奇坤. 2001. 褶纹冠蚌精子的超微结构研究. 水生生物学报, 25(5): 481~485
- 尤永隆,林丹军. 1998. 尼罗罗非鱼精子形成中核内囊泡的释放. 动物学报, 44(3): 257~263
- 叶素兰,吴常文,余治平. 2008. 曼氏无针乌贼(*Sepiella maindroni*)精子形成的超微结构. 海洋与湖沼, 39(3): 269~275
- 叶素兰,吴常文,傅正伟,余治平. 2009. 曼氏无针乌贼精子的超微结构. 中国水产科学, 16(1): 8~14
- 刘长琳,庄志猛,陈四清,邓永生. 2009. 金乌贼(*Sepia esculenta* Hoyle)亲体驯养与繁殖特性研究. 渔业现代化, 36(2): 34~37, 42
- 陈四清,刘长琳,庄志猛,邓永生. 2008. 饵料、盐度对金乌贼幼体生长的影响. 渔业现代化, 35(6): 23~25, 32
- 陈四清,刘长琳,贾文平,庄志猛,孙建明,于广成,刘克奉,王晓华. 2010. 金乌贼(*Sepia esculenta* Hoyle)胚胎发育的研究. 渔业科学进展, 31(5): 1~7
- 沈亦平,张锡元. 1993. 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), 39(6): 123~129
- 吴莹莹. 2008. 半滑舌鳎精子发生及其受精过程. 见: 中国海洋大学博士学位论文
- 竺俊全,杨万喜,尤仲杰,王武,焦海峰. 2006. 嘉庚蛸精子发生的超微结构. 水产学报, 30(2): 161~169
- 郝振林,张秀梅,张沛东. 2007. 金乌贼的生物学特性及增殖技术. 生态学杂志, 26(4): 601~606
- 高悦勉,白胡木吉力图,孙静娴. 2007. 青蛤精子的超微结构. 水产科学, 26(2): 95~98
- 焦海峰,尤仲杰,竺俊全. 2004. 软体动物精子的超微结构及其分类学意义. 宁波大学学报, 17(4): 414~418
- Arnold, J. M., and Williams-Amold, L. D. 1978. Spermiogenesis of *Nautilus pompilius*, I. General Survey. J. Exp. Zool. 205: 13~26
- Fields, W. G., and Thompson, K. A. 1976. Ultrastructure and functional morphology of spermatozoa of *Russia pacifica* (Cephalopoda, Decapoda). Can. J. Zool. 54: 908~932
- Franzen, A. 1967. Spermiogenesis and spermatozoa of Cephalopoda. Ark. Zool. 19: 323~337
- Gimenez-Bonafe, P., Ribes, E., Zamora, M. J. et al. 2002. Evolution of Octopod sperm I: Comparison of nuclear morphogenesis in *Eledone* and *Octopus*. Mol. Reprod. Dev. 62: 357~362
- Healy, J. M. 1989. Spermatozoa of the deep-sea Cephalopoda *Vampyroteuthis infernalis* Chun: ultrastructure and possible phylogenetic significance. Philos. Trans. R. Soc. Lond B, 323: 589~600
- Healy, J. M. 1990a. Ultrastructure of spermatozoa and spermiogenesis in *Spirula spirula* (L.): systematic importance and comparison with other cephalopods. Helgoland Mar. Res. 44: 109~123
- Healy, J. M. 1990b. Ultrastructure of spermiogenesis in *Vampyroteuthis infernalis* Chun—a relict cephalopod mollusk. Helgolander Meeresunters, 44: 95~107
- Hou, S. T., and Maxwell, W. L. 1992. Evidence for an intermediate type of spermatozoon; ultrastructural studies of spermiogenesis in the cuttlefish *Russia macrosoma* (Cephalopoda, Decabrachia). Zoomorphology, 112: 207~215
- Mann, T., Martin, A. W., and Thiersch, J. B. 1970. Male reproduction tract, spermatopheres and spermatophoric reaction in the giant octopus of the North Pacific, *Octopus dofleini martini*. Proc. R. Res. Ser. B, 175(38): 31~61
- Maxwell, W. L. 1975. Spermiogenesis of *Eusepia officinalis* (L.), *Loligo forbesi* (Steenstrup) and *Alloteuthis subulata* (L.) (Cephalopoda, Decapoda). Proc. R. Soc. Lond B Biol. Sci. 191: 527~535
- Ribes, E., Gimenez-Bonafe, P., Zamora, M. J. et al. 2002. Evolution of octopode sperm II: comparison of acrosomal morphogenesis in *Eledone* and *Octopus*. Mol. Reprod. Dev. 62: 363~367
- Zhu, J. Q., Yang, W. X., You, Z. J. et al. 2005. The ultrastructure of the spermatozoon of *Octopus tankahkeei*. J. Shellfish Res. 24(4): 1 203~1 207