

魁蚶精子的超微结构

姚红伟 孙金阳 郭 晋 高悦勉*

(大连海洋大学, 辽宁省省级高校水生生物学重点实验室, 116023)

摘 要 应用扫描和透射电镜观察了魁蚶的精子, 揭示了其超微结构。扫描结果显示, 魁蚶精子全长 55 μm , 由头部、中段和尾部 3 部分组成。其中, 头部长约 2 μm , 最宽处直径为 1.5 μm 。透射结果显示, 魁蚶头部包括顶体和精核。顶体位于头部前端, 较圆钝, 呈倒“V”形, 与精核之间有一间隙, 精核位于顶体的下方, 占头部体积的 2/3 左右, 具有核后窝和植入窝, 但是没有核前窝。中段由 5 个近圆形的线粒体围绕着中心体构成, 线粒体横切面长轴直径为 0.6 μm , 短轴直径为 0.5 μm 。尾部细长, 由尾丝包被质膜构成, 内有轴丝。横切面呈圆形, 直径为 0.15 μm , 横切面为典型的“9+2”结构。

关键词 魁蚶 精子 超微结构

中图分类号 Q954 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2010)02-0067-05

Ultrastructure of the spermatozoon of *Scapharca broughtonii*

YAO Hong-wei SUN Jin-yang GUO Jin GAO Yue-mian*

(Dalian Ocean University, Key Laboratory of Hydrobiology in Liaoning Provincial Universities, 116023)

ABSTRACT The ultrastructure of the spermatozoon of *Scapharca broughtonii* was observed with scan and transmission electron microscopy (SEM and TEM). The results of SEM demonstrated that the total length of spermatozoon was 55 μm , composed of head, middle-piece and tail. The head length of spermatozoon was 2 μm and the diameter was 1.5 μm at the maximum width. The results of TEM demonstrated that the head of spermatozoon consisted of acrosome and nuclear. The acrosome was in the front of head, somewhat obtuse and V-shaped upside down. A gap existed between the acrosome and the nuclear. The nuclear, in which there were posterior nuclear fossa and implantation fossa, without anterior nuclear fossa, was under acrosome and accounted for 2/3 of the head volume. The middle-piece was formed by centrosome which was revolved around by 5 oval-shaped mitochondrias. The long axis diameter of cross section at mitochondria was 0.6 μm and the short axis diameter was 0.5 μm . The flagellum was slender and consisted of tail fiber which was surrounded by plasma membrane, with an axoneme inside. The cross section was circular and its diameter was 0.15 μm , showing a typical “9+2” structure.

KEY WORDS *Scapharca broughtonii* Spermatozoon Ultrastructure

国家支撑计划(2006BAD09A15)资助

* 通讯作者。E-mail: gaoyuemian@dlfu.edu.cn

收稿日期: 2009-04-27; 接受日期: 2009-06-03

作者简介: 姚红伟(1981-), 男, 硕士研究生, 主要从事水产生物繁育研究。E-mail: yao_317@163.com

魁蚶 *Scapharca broughtonii* 俗称赤贝, 隶属瓣鳃纲 Lamellibranchia、翼形亚纲 Pterimorphia、蚶目 Arcoidea、蚶科 Arcidae, 主要分布于中国、日本、朝鲜半岛及菲律宾, 我国辽宁至广东沿海都有分布, 以黄海北部较多(王如才等 2002), 是一种颇受欢迎的经济价值较高的贝类。随着魁蚶苗种生产和增养殖的发展, 对其精子形态结构、精子的运动方式、受精过程以及受精机理的研究越来越重要。精子的超微结构不仅可作为分类的依据, 而且对于探讨种间生殖隔离机制, 以及人工育苗、杂交育种等都有参考价值。本研究用扫描电镜(SEM)和透射电镜(TEM)方法分别对魁蚶精子的超微结构进行了观察和研究, 旨在为魁蚶繁育生物学研究提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用魁蚶, 为 2007 年 4 月辽宁省庄河金驼水产食品有限公司育苗室人工升温促熟的种贝。挑选活体成熟雄贝, 解剖后取其精巢和精液, 用 2.5% 的戊二醛固定, 在 4 °C 下保存。

1.2 实验方法

1.2.1 扫描电镜(SEM)样品制备与观察

扫描观察的样品用 2.5% 的戊二醛在 4 °C 固定保存后, 梯度乙醇脱水, 叔丁醇中置换, 临界点干燥法干燥, 用 JFC-1100 型离子溅射仪喷金, JEM-1200EX 透射电镜扫描附件观察并拍照。

1.2.2 透射电镜(TEM)样品制备与观察

透射观察样品采用上述方法固定后, 再用 1% 锇酸固定, 然后经乙醇系列浓度脱水后, Epon 812 环氧树脂包埋, 奥地利产 E 型超薄切片机切片, 醋酸双氧铀和柠檬酸铅双染色, JEM-1200EX 透射电镜观察并拍照。

2 结果

2.1 扫描电镜的观察

扫描结果显示, 魁蚶精子的形态为典型的原生鞭毛型, 精子主要由头部、中段和尾部 3 部分组成, 精子全长 55 μm , 其中头部长 2 μm , 最宽处直径为 1.5 μm 。精子头部顶体圆钝, 其下方为精核。中段由线粒体环绕形成主要结构。尾部细长, 长为 53 μm (图版 I-1 和图版 I-2)。

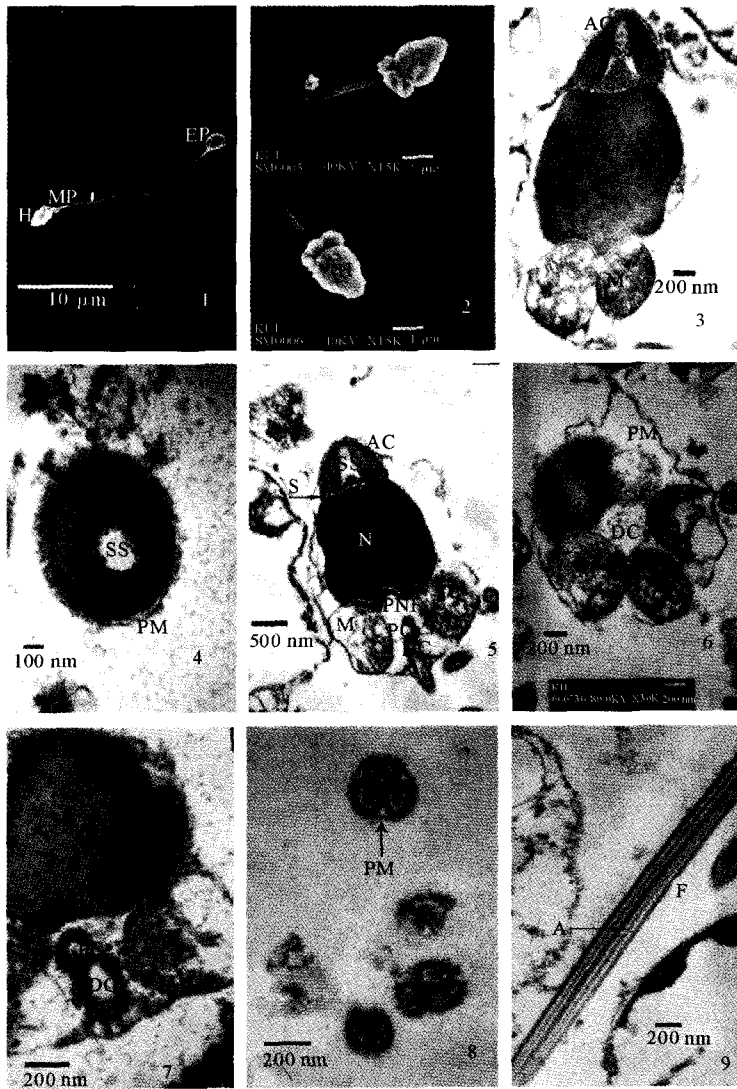
2.2 透射电镜的观察

2.2.1 头部

魁蚶的精子头部呈弹头形, 主要包括顶体和精子细胞核两部分。在精子纵切面的中轴方向上, 顶体的长度为 0.6~0.7 μm , 占细胞核长度的 1/2 左右。从顶体的横切面可以看出, 顶体内膜紧靠亚顶体腔。魁蚶亚顶体腔的形状与其顶体形状相对应, 都呈倒 V 字形, 内含均匀的电子密度较低的亚顶体物质, 而顶体物质由分布均匀的高电子密度物质组成, 其致密度与细胞核一致, 顶体酶就位于顶体中。顶体下端与精核间有一间隙, 形成一道横纹(Striation), 将顶体和精核明显区分开来(图版 I-3, 图版 I-4 和图版 I-5)。

精核为一个电子致密区域, 占头部体积的 2/3 左右, 宽度由亚顶体腔向中段方向逐渐变大。最窄处直径为 0.8 μm , 最宽处直径为 1.5 μm 。精核呈圆桶形, 其下端与近端中心粒相邻处内陷形成核后窝(Posterior nuclear fossa), 但是精核前部与亚顶体腔相接处没有内凹, 没有核前窝(Anterior nuclear fossa)。此外, 在魁蚶精核底部位置, 由于球状线粒体的嵌入, 使得精核亦向内凹陷, 形成植入窝(Implantation fossa)(图版 I-3, 图版 I-5 和图版 I-7)。

2.2.2 中段



1. 精子外观扫描: 头部、中段和尾部×3 000; 2. 精子头部扫描×15 000; 3. 头部和中段纵切, 示顶体、亚顶体腔、横纹、精核、植入窝和线粒体×20 000; 4. 顶体横切, 示顶体、亚顶体腔和质膜×50 000; 5. 整体纵切, 示顶体、亚顶体腔、横纹、精核、核后窝、线粒体、近端中心粒、远端中心粒×15 000; 6. 中段横切, 示线粒体和远端中心粒×30 000; 7. 中段纵切, 示核后窝、近端中心粒、远端中心粒和线粒体×30 000; 8. 尾部横切, 示质膜及“9+2”结构×40 000; 9. 尾部纵切, 示鞭毛和轴丝×20 000

1. Sperm appearance scanning, head, mid-piece and end-piece ×3 000; 2. Head of sperm scanning×15 000; 3. Longitudinal section at head and mid-piece, showing acrosome, subacrosome space, striation, nucleus, implantation fossa and mitochondria ×20 000; 4. Cross section at acrosome, showing acrosome, subacrosome space and plasma membrane ×50 000; 5. Longitudinal section of whole, showing acrosome, subacrosome space, striation, nucleus, posterior nuclear fossa, mitochondria, proximal centriole and distal centriole ×15 000; 6. Cross section at mid-piece, showing mitochondria and distal centriole ×30 000; 7. Longitudinal section at mid-piece, showing posterior nuclear fossa, proximal centriole, distal centriole and mitochondria ×30 000; 8. Cross section at end-piece, showing plasma membrane and the “9+2” structure ×40 000; 9. Longitudinal section at end-piece, showing flagellum and axoneme ×20 000

说明: H. 精子头部; MP. 精子中段; EP. 精子末段; AC. 顶体; SS. 亚顶体腔; S. 横纹; IF. 植入窝; PNF. 核后窝; PM. 质膜; N. 核; M. 线粒体; PC. 近端中心粒; DC. 远端中心粒; A. 轴丝; F. 鞭毛

Explanation: H. Head of the sperm; MP. Mid-piece; EP. End piece; AC. Acrosome; SS. Subacrosome space; S. Striation; IF. Implantation fossa; PNF. Posterior nuclear fossa; PM. Plasma membrane; N. Nucleus; M. Mitochondria; PC. Proximal centriole; DC. Distal centriole; A. Axoneme; F. Flagellum

图版 I 魁蚶精子超微结构的电镜照片

Plate I The electron microscope photographs of the spermatozoon of *Scapharca broughtonii*

魁蚶精子中段由线粒体围绕着中心体构成,位于精核与尾部之间。从中段横切面可以看到5个近圆形的线粒体,线粒体横切面长轴直径为 $0.6\ \mu\text{m}$,短轴直径为 $0.5\ \mu\text{m}$ 。线粒体的嵴发达,基质电子密度高,其主要作用是为精子的运动提供能量(图版 I-6)。

中心体包括近端中心粒(Proximal centriole)和远端中心粒(Distal centriole),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,位于核后窝内,横切面直径为 $0.18\ \mu\text{m}$;远端中心粒长轴与精子长轴平行,轴长度为 $0.3\ \mu\text{m}$,由远端中心粒的后端引生出精子尾鞭的轴丝(图版 I-5和图版 I-7)。

2.2.3 尾部

魁蚶精子的尾部为鞭毛形,外周有质膜包围,内有轴丝(Axoneme),尾部长 $53\ \mu\text{m}$ 。横切面呈圆形,直径为 $0.15\ \mu\text{m}$,为典型的“9+2”结构,它是由远端中心粒的末端发出的位于中央的两条纤维状轴丝及其周围的9条纤维组成的。有时可观察到两个或3个尾部处于同一质膜中的情况(图版 I-8和图版 I-9)。

3 讨论

3.1 魁蚶与其他双壳贝类精子的头部结构比较

多数双壳贝类精子分为头部、中段和尾部(韩厚伟等 2008)。本实验所观察到的魁蚶精子也属于此类型。双壳贝类精子的形态各不相同,主要取决于精子头部顶体和精核的结构。

本实验所观察到的魁蚶和其他蚶科类动物(孙慧玲等 2000;竺俊全等 2002、2004)的精子顶体形状一样,都呈倒“V”形,但是魁蚶的更圆钝。有的种类精子顶体的形状比较独特,中国淡水蛭 *Novaculina chinensis* 精子的顶体呈“⊥”形(饶小珍等 2000),而褶纹冠蚌 *Cristaria plicata* 精子头部无顶体或顶体退化(邓道贵等 2001)。

精子亚顶体腔的形态结构也因种类不同而存在一定的差异。某些种类的顶体下腔中有特殊结构,Galtsoff等(1960)在美洲牡蛎 *Crassostrea virginica* 精子的顶体下腔中发现有轴体(Axial body)存在,是一种类似于纤维状物的低电子密度束,Longo等(1967)在贻贝精子中也观察到了与轴体相类似结构的轴棒(Axial rod)。任素莲等(2001)在研究太平洋牡蛎 *Crassostrea gigas* 精子发生时也观察到轴棒的形成。这些物质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。此外,大珠母贝 *Pinctada maxima* 精子的顶体下腔中有浓缩的板层小体,亚顶体物质呈伞状分布,一直延伸至核的末端(杜晓东 1996)。本试验所研究的魁蚶精子的亚顶体腔与顶体形状相类似,但是没有发现类似于轴体或轴棒的存在。这与泥蚶(孙慧玲等 2000;竺俊全等 2002)、毛蚶和青蚶精子(竺俊全等 2004)的观察情况相似。

精核的核内物质高度浓缩且分布均匀,其形态结构差异主要体现在其大小和横径与纵径的比例、以及核前窝(Anterior nuclear fossa)与核后窝(Posterior nuclear fossa)结构的不同。缢蛭精子的细胞核呈前后扁、中部内陷的双凹扁平体,其横径为纵径的二倍多(刘正琮等 1990)。对于蚶科的泥蚶、毛蚶及青蚶精子的细胞核都呈圆桶状,而且三者都具有核后窝,泥蚶和毛蚶没有核前窝,而青蚶具有核前窝。竺俊全等(2002)认为核前窝是将来顶体丝突起的重要结构基础,所以有无核前窝结构与精子受精机制的关系,有待进一步研究。Popham(1979)认为核后窝的发生与近端中心粒的卫星体的出现有关。本实验观察到的魁蚶精子并没有核前窝,但是具有核后窝和植入窝。这种植入窝结构在栉孔扇贝(任素莲等 1998)和菲律宾蛤仔(代培芳等 2004)中都有报道。

双壳贝类精核中常可见有囊泡(Vesicle)结构,也称为核泡。例如:泥蚶精核中发现圆形囊泡,囊泡的位置虽有所不同但始终只有1个,且基本围绕在精核中轴附近,孙慧玲等(2000)认为成熟泥蚶精子细胞核中的泡状结构属自然结构,其功能有待进一步研究。但是这一结构在魁蚶精核中并未发现。焦海峰等(2004)认为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。到目前为止,囊泡结构的来源及其功能尚未明确,需要进一步的解明。

3.2 中心体相关结构

双壳类软体动物精子的中段是由线粒体包绕的两个互相垂直的中心粒组成,翡翠贻贝精子中段有中心粒

卫星体(Centriolesatelli 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质膜明显内陷(柯佳颖等 2005)。沈亦平等(1993)在合浦珠母贝精子的远端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(1993)称这一结构为卫星体(Satellite body),这一结构位于核后窝处,作为近端中心粒与核膜间的联系。孙慧玲等(2000)在泥蚶精子中也发现有此结构,将其称为中心粒卫星体结构。从中心粒卫星体的形状和其所处位置来看,可能有助于加固鞭毛与精子头部的连接,有利于精子的运动,但是本试验并没有发现魁蚶精子有此结构。

3.3 线粒体数量及尾部结构

双壳贝类精子中线粒体的形态一般呈圆形或卵圆形,精子尾部的摆动就是依靠线粒体提供的能量来实现的,因此,线粒体是精子运动能量的重要来源。在蚶科贝类中,泥蚶精子为5个线粒体;毛蚶精子线粒体常见5个,偶见4个;青蚶精子线粒体数常见5个,偶见6个(孙慧玲等 2000;竺俊全等 2002、2004)。本实验所观察魁蚶精子线粒体数目为5个,线粒体横切面的平均直径为 $0.6\ \mu\text{m}$ 。

正常情况下,精子只有1个尾部包被于质膜中,本试验观察到的魁蚶精子末段也有两个或3个尾部处于同一质膜中的现象(图版I-8)。目前并不清楚出现此种情况的原因,可能与所处环境和发育状况有关,也可能是环境污染所致。

综上所述,魁蚶精子的形态与其他蚶科贝类的精子形态差异不大。

参 考 文 献

- 王如才,王昭萍,张建新. 2002. 海水贝类养殖学(第二版). 青岛:青岛海洋大学出版社
- 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
- 孙慧玲,方建光,王清印,燕敬平,李 峰,张继红,梁兴明,梁翻鹏,孟瑞平. 2000. 泥蚶精子的超微结构. 水产学报,24(4):297~302
- 代培芳,饶小珍,陈寅山. 2004. 菲律宾蛤仔的精子发生和精子超微结构. 动物学杂志,39(2):26~32
- 任素莲,王德秀,绳秀珍,王如才,姜 明,刘晓云. 2001. 太平洋牡蛎精子形成的研究. 青岛海洋大学学报,31(4):501~505
- 任素莲,王如才,王德秀. 1998. 栉孔扇贝精子超微结构的研究. 青岛海洋大学学报,28(3):387~392
- 刘正琮,上官步敏,许振祖. 1990. 缢蛏精子发生的超微结构研究. 厦门大学学报(自然科学报),29(1):81~84
- 杜晓东. 1996. 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),42(2):219~224
- 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(自然科学报),39(6):123~129
- 竺俊全,杨万喜,石钢德. 2002. 泥蚶精子的超微结构. 浙江大学学报(理学版),29(3):324~328
- 竺俊全,杨万喜. 2004. 毛蚶与青蚶精子超微结构及其所反映的蚶科进化关系. 动物学研究,25(1):57~62
- 柯佳颖,饶小珍,陈寅山. 2005. 翡翠贻贝精子的超微结构. 动物学杂志,40(2):66~70
- 饶小珍,陈寅山,陈文列,许友勤,陈连云. 2000. 中国淡水蚌精子发生的超微结构研究. 动物学杂志,35(5):2~5
- 韩厚伟,高悦勉,刘春风,孙静娴. 2008. 虾夷扇贝精子的超微结构. 动物学杂志,43(1):75~81
- 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(理工版),17(4):414~418
- Galtsoff, P. S., and Philpott, D. E. 1960. Ultrastructure of spermatozoon of the oyster, *Crassostrea virginica*. J. Ultrastr. Res. 3:241~253
- Longo, F. J., and Domfeld, E. J. 1967. The fine structure of spermatid differentiation in mussel, *Mytilus edulis*. J. Ultrastr. Res. 20:462~480
- Popham, J. D. 1979. Comparative spermatozoon morphology and bivalve phylogeny. J. Malacol. Rev. 12:1~20
- Thielley, M., Weppe, M., and Herbaut, C. 1993. Ultrastructural study of gametogenesis in the French Polynesian black pearl oyster *Pinctada margaritifera* (Mollusca, Bivalvia). J. Shellfish Res. 12(1):41~47