

褶纹冠蚌精子的超微结构研究

邓道贵¹ 谈奇坤²

(1 淮北煤炭师范学院生物系, 淮北 235000)

(2 安徽师范大学生物系, 芜湖 241000)

摘要: 利用电镜技术对褶纹冠蚌精子的形态和结构作了研究。结果表明: 精子全长约 40—43 μm , 由头部、中段和鞭毛组成。头部呈子弹头形, 长约 2.6 μm , 直径约 1.5 μm , 内含细胞核, 核属浓缩型, 外被核膜。5 个球形的线粒体构成了精子的中段, 中段长约 0.6 μm , 最大直径约 1.8 μm 。近端中心粒位于核基部的凹陷处, 并通过致密的无定形的基质与远端中心粒相连。远端中心粒与鞭毛领之间通过 9 个围中心粒器紧密相连, 鞭毛长约 37—40 μm 。精子顶体退化, 仅由几个顶体囊泡组成。

关键词: 褶纹冠蚌; 精子; 超微结构

中图分类号: S966.22⁺2 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2001)05-0481-05

有关瓣鳃纲精子的超微结构, 国内仅有少量的研究^[1, 2], 国外已有较多的工作^[3, 5-10], 但褶纹冠蚌精子的超微结构尚未见报道。褶纹冠蚌(*Cristaria plicata* Leach) 是一种成珠快而质量较好的淡水育珠蚌, 研究其精子的形态和结构, 不但可加深对蚌类繁殖生物学机理的认识, 同时对促进蚌类人工繁殖工作的深入开展也具有实际意义。

1 材料和方法

性成熟的雄性褶纹冠蚌, 1998 年 5 月中旬购于淮北市农贸市场, 实验室暂养几天后, 迅速打开贝壳, 剖开内脏团, 吸取少量精巢流出物, 离心得精子沉淀物, 按下列方法处理:

透射电镜制样 一部分沉淀物用 4% 戊二醛(0.1 mol/L 磷酸缓冲液配制) 固定 3h, 缓冲液洗, 1% 锇酸后固定 1.5h, 缓冲液洗, 丙酮系列脱水, Epon812 包埋, Ultracut-E 超薄切片机切片, 醋酸铀和柠檬酸铅双染色。日立 H-600 型透射电镜观察并摄影。

扫描电镜制样 固定方法同透射电镜制样, 酒精系列脱水, 临界点干燥, 喷金, Kyky-1000B 型扫描电镜观察并摄影。

细胞化学制样 沉淀物用 Camoy's 液固定, 酒精系列脱水, 石蜡包埋, 切片厚度为 7 μm 。Feulgen 反应示细胞核, PAS 反应示粘多糖。

收稿日期: 1999-07-23; 修订日期: 2000-04-03

基金项目: 安徽省教育厅自然科学基金资助项目(编号: 2000JL196)

作者简介: 邓道贵(1969—), 男, 安徽省巢湖市人; 讲师, 硕士; 研究方向: 淡水无脊椎动物

2 结果

2.1 精子的形态

扫描电镜表明: 褶纹冠蚌精子全长约 40—43 μm , 由头部、中段和鞭毛三部分组成。头部呈子弹头形, 长约 2.6 μm , 直径约 1.5 μm 。鞭毛的前后粗细基本一致(图版 I : 1、2)。

2.2 精子的内部结构

2.2.1 头部 PAS 反应呈阴性, Feulgen 反应呈阳性, 表明精子头部容纳着细胞核。透射电镜显示: 核呈浓缩状, 电子致密度高, 染色深, 外被核膜。在精子质模和核膜之间, 细胞质通常消失(图版 I : 3、4)。核前端的顶体区退化, 呈帽状, 仅有几个小的囊泡; 核后端向内凹陷, 凹陷处常加厚, 近端中心粒位于凹陷中(图版 I : 3)。

2.2.2 中段 由五个球形的线粒体环绕而成, 长约 0.6 μm , 最大直径 1.8 μm , 线粒体间紧密相连, 每个线粒体的一侧紧贴头部基端, 线粒体环基部形成鞭毛领(Flagellar collar), 单个鞭毛由此伸出(图版 I : 3、5)。位于精子核基部的五个球形线粒体构成了中段的外周, 近端中心粒和远端中心粒组成了中段的内部(图版 I : 5、7)。线粒体的嵴呈层状, 清晰可见, 内部基质电子密度较大。近端中心粒通过致密的无定形的基质与远端中心粒发生联系, 并且, 致密物从近端中心粒一直延伸至核的凹陷处, 与核基部相接触(图版 I : 3)。

表 1 几种瓣鳃纲精子超微结构的比较

Tab. 1 Comparison of sperm ultrastructure of nine Bivalve species

种类	中段	鞭毛长度	顶体	核	精子体长	科(目)
<i>Nucula sculcata</i> (Franzen, 1983)	5 个线粒体	4.5 μm	杯状	长 8.2 μm 直径 1.7 μm	50 μm	湾锦蛤科 (列齿目)
<i>Mytilus galloprovincialis</i> (Hodgson, 1986)	5 或 6 个 线粒体	2.5 μm	存在	圆形 直径 1.4 μm		贻贝科 (异柱目)
<i>Pecten maximus</i> (Dorange, 1989)	4 个 线粒体		短圆锥状	圆桶形		扇贝科 (异柱目)
<i>Diplodon chilensis</i> (Peredo, 1990)	5 个 线粒体	38.5 $\pm$ 0.9 μm	不存在	子弹头形, 长 4.0 μm , 直径 1.0 μm	42 μm	蚌科 (真瓣鳃目)
<i>Anodonta cygnea</i> (Rocha, 1990)	5 个 线粒体	3.5 μm	退化	长 2.9 $\pm$ 0.2 μm		同上
<i>Anodonta grandis</i> (Lynn, 1994)	5 个 线粒体	37—40 μm	退化	圆柱形, 长 4.0 μm , 直径 1.5 μm	39 μm	同上
<i>Hyriopsis schlegelii</i> (Higashi, 1964)	5 个 线粒体		不存在	子弹头形, 长 2.6 μm , 直径 1.5 μm	40—43 μm	同上
<i>Cristaria plicata</i> (本文)	5 个 线粒体		退化			同上
<i>Dreissena polymorpha</i> (Franzen, 1983)	4 或 5 个 线粒体		形成复合体	圆桶形, 长 2.0 μm , 直径 1.1 μm		饰贝科 (真瓣鳃目)

远端中心粒周围具有围中心粒器(Pericentriolar apparatus), 它由九个围中心粒的突起构成(图版 I : 5)。这些突起使得远端中心粒通过鞭毛领与质膜相连接。另外, 在每个突起的近中部, 各有一个致密物将突起与鞭毛膜相连(图版 I : 7)。两个中心粒均呈九组三联体模式, 在鞭毛领中, 这种模式被外周的九组双联体微管和一对中央微管的模式所替代。此外, 每组双联体微管通过一个致密物与鞭毛膜相连(图版 I : 6)。

2.2.3 鞭毛 位于鞭毛领之后, 鞭毛横切呈典型的“9+2”结构, 一对中央微管之间通过弧形的致密物相连(图版 I : 8)。鞭毛自远端中心粒末端伸出。

2.3 讨论

褶纹冠蚌精子属原始类型, 与其它典型的蚌科(Unionid)精子一样^[6, 8, 9, 11], 具以下几个特征: 子弹头形的头部含有浓缩的细胞核; 线粒体和中心粒精密组合构成了精子的中段; “9+2”型结构的鞭毛来自远端中心粒; 围中心粒器将远端中心粒通过鞭毛领与精子质膜相连。本研究发现, 在褶纹冠蚌精子的鞭毛领中, 每个围中心粒突起还通过致密物与鞭毛膜相连, 进一步加强了远端中心粒、鞭毛和质膜间的牢固性。

Peredo 等认为精子的顶体结构不能作为瓣鳃纲系统发育的分类依据^[9], 但 Hodgson 等对三类贻贝科动物精子超微结构的详细比较, 认为精子的顶体等结构作为瓣鳃纲的分类依据是可靠的^[7]。比较了九种双壳类精子的超微结构(表 1), 结果表明: 中段除少数种类含 4 个或 6 个线粒体外, 皆具有 5 个线粒体。而精子的体长、鞭毛长度、顶体结构以及核的大小和形状均存在一定的差异。其中不同目之间顶体差异较大, 同一科之间顶体差异较小。因此, 作者赞同 Hodgson 学者的看法, 认为精子的形态和结构可作为瓣鳃纲系统演化的分类依据之一。

一般认为精卵结合时, 需要进行复杂的顶体反应。但在淡水蚌类中, *Anodonta cygnea* 和 *A. grandis* 等精子前端仅具有退化的顶体^[8, 11], *Hyriopsis schlegelii* 和 *Diplodon chilensis chilensis* 等精子不具有顶体^[6, 9]。本研究发现, 褶纹冠蚌精子具退化的顶体, 仅由几个小的囊泡组成。因而作者认为淡水蚌类的受精, 可能存在相似的方式。目前对蚌类受精机理的研究较少见。Popham 报道顶体与卵的大小和结构及个体发育的孵化类型相关, 并认为体内受精种类的卵与体外受精种类的卵相比, 具较简单的卵膜结构^[10]。据 Focarelli 等报道, *Unio elongatulus* 卵不具胶膜, 且高度极化, 在植物极有一个受精孔, 此处电子密度低。受精时, 精子经受精孔进入卵中。石安静发现背角无齿蚌也具受精孔^[11]。因此认为当淡水蚌类精子和卵接触时, 精子可经受精孔区进入卵内, 进行受精。这种受精方式可以使精子入卵时减少阻力, 而不需进行复杂的顶体反应过程。所以, 顶体的有无或退化似乎不影响蚌类的正常受精。

参考文献:

- [1] 石安静. 背角无齿蚌生殖细胞及钩介幼虫的扫描电镜观察[J]. 动物学杂志, 1995, 30(1): 10—13
- [2] 沈亦平、马丽君、张锡元等. 合浦珠母贝的配子发生[J]. 动物学报, 1992, 38(2): 113—117
- [3] Dorange G, Lepenne M. Ultrastructural characteristics of spermatogenesis in *Pecten maximus* (Mollusca, Bivalvia) [J]. *Invert. Reprod and Develop* 1989, 15: 109—117
- [4] Focarelli R, Renieri T, Rosati F. Polarized site of sperm entrance in the egg of a freshwater Bivalve, *Unio elongatulus* [J]. *Dev Biol* 1988, 127: 443—451

- [5] Franzen Ake. Ultrastructural studies of spermatozoa in three Bivalve species with notes on evolution of elongated sperm nucleus in primitive spermatozoa[J]. *Gamete Research*, 1983, **7**: 199—214
- [6] Higashi S. Electron microscope studies on spermatogenesis of the freshwater mussel, *Hyriopsis schlegelii* [J]. *Bull. Jpn Soc Sci Fish*, 1964, **30**: 564—569
- [7] Hodgson A N, Bernard R T. Ultrastructure of the sperm and spermatogenesis of three species of Mytilidae (Mollusca, Bivalvia) [J]. *Gamete Research*, 1986, **15**: 123—135
- [8] Lynn J W. The ultrastructure of the sperm and motile spermatozeugmata released from the freshwater mussel *Anodonta grandis* (Mollusca, Bivalvia) [J]. *Can J Zool*, 1994, **72**: 1452—1461
- [9] Peredo S, Garrido O, a Parada E. Spermiogenesis and sperm ultrastructure in the freshwater mussel *Diplodon chilensis* (Mollusca: Bivalvia) [J]. *Invert Reprod and Develop*, 1990, **17**(3): 171—179
- [10] Popham J D. Comparative morphometrics of the acrosomes of the sperms of “externally” and “internally” fertilizing sperms of shipworms (Bivalvia) [J]. *Cell Tiss Res*, 1974, **150**: 291—297
- [11] Rocha E, Azevedo C. Ultrastructural study of the spermatogenesis of *Anodonta cygnea*. L. (Bivalvia, Unionidae) [J]. *Invert. Reprod and Develop*. 1990, **18**(3): 169—176

STUDIES ON ULTRASTRUCTURE OF THE SPERM OF FRESHWATER MUSSEL, *CRISTARIA PLICATA*

DENG Dao-gui¹ and TAN Qi-kun²

(1 Department of Biology, Huaibei Coal Industry Teachers' College Huaibei 235000;

2 Department of Biology, Anhui Normal University Wuhu 241000)

Abstract: The morphology and ultrastructure of the sperm of *Cristaria plicata* were studied with electron microscope. The results show that the sperm is 40—43 μm long and consists of the head, the middle piece and the flagellum. The 1.5 × 2.6 μm sperm head is bullet-shaped and contains a nucleus which is condensed and delimited by a nuclear membrane. The middle piece (0.6 μm long) composes of five spherical mitochondria. A proximal centriole is located in a fossa in the nucleus base and connects to a distal centriole by a dense amorphous matrix. The distal centriole is located to the flagellar collar. The flagellum is 37—40 μm long. A very reduced acrosome is only composed of several acrosomal vesicles.

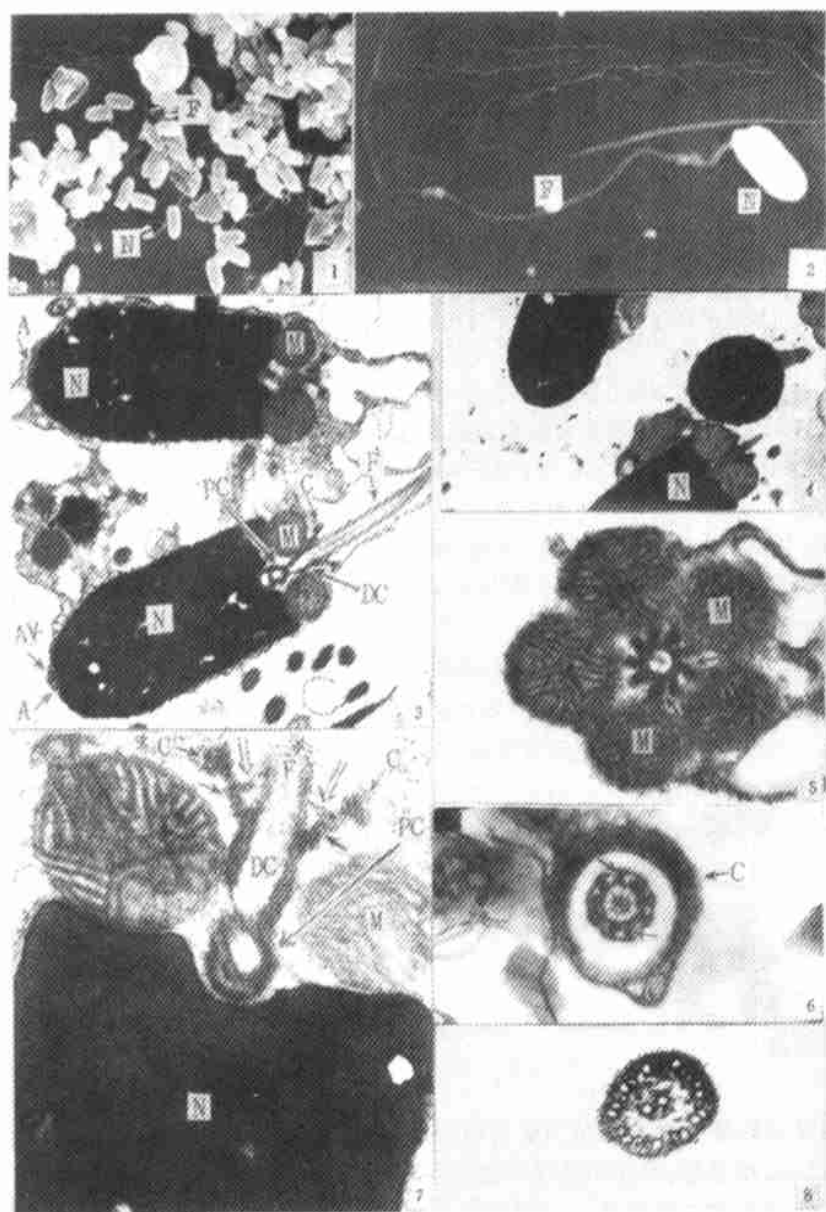
Key words: *Cristaria plicata*; Sperm; Ultrastructure

图版 I 说明

1, 2. 精子形态。× 3, 000; × 5, 600; 3. 精子纵切。× 15, 000; 4. 精子核横切(箭头), 示致密的核质。× 10, 000; 5. 精子中段横切, 箭头示围中心粒的突起。× 40, 000; 6. 鞭毛领横切面, 箭头示双联体微管与鞭毛膜相连的致密物。× 50, 000; 7. 精子头部基端的正向切面, 短箭头(↖)示围中心粒突起; 箭头(⇒)示围中心粒突起与鞭毛膜相连的致密物。× 50, 000; 8. 鞭毛横切, 示典型的“9+2”结构。× 100, 000。

1, 2. The morphology of the sperm. × 3, 000; × 5, 600; 3. A longitudinal section of a sperm. × 15, 000; 4. A transverse section of the sperm nucleus (arrow) showing a dense nuclear material. × 10, 000; 5. A transverse section of the sperm middle piece, showing the pericentriolar processes(↖). × 40, 000; 6. A transverse section of the sperm flagellar collar. The doublets are connected to the flagellar membrane by dense materials(↖). × 50, 000; 7. A tangential section at the base of the sperm head, showing the pericentriolar processes(↖), and the pericentriolar processes are attached to the flagellar membrane by dense materials(⇒). × 50, 000; 8. A transverse section of the flagellum showing a typical “9+2” structure. × 100, 000.

A: 顶体区 Acrosome-like region AV: 顶体囊泡 Acrosomal vesicle C: 鞭毛领 Flagellar collar DC: 远端中心粒 Distal centriole F: 鞭毛 Flagellum M: 线粒体 Mitochondria N: 细胞核 Nucleus PC: 近端中心粒 Proximal centriole



图版 I