

褶纹冠蚌精子球的形态和超微结构观察

邓道贵

(淮北煤炭师范学院生物系, 淮北 235000)

摘要: 利用光镜和电镜技术研究了褶纹冠蚌精子球的形态和超微结构。结果表明: 精子球呈球形, 直径约 65—70 μm , 容纳 2300 多个精子。从外向内, 精子球由非细胞层、表面层和内部区组成。非细胞层薄, 厚约 0.6 μm , 易碎。表面层厚约 7.5 μm , 被分隔成许多辐射状排列的小室, 单个精子头部位于小室内, 指向精子球的中央, 而精子的单个鞭毛由精子球的表面伸出。精子质膜在鞭毛领处与表面层相连, 相邻精子间无细胞质桥相连。内部区呈球状, 内含絮状物质。精子球从雄蚌出水管排出后, 位于精子球外周的鞭毛沿固定方向不停地摆动, 精子球翻滚着向前运动, 且单个精子依次从精子球上脱落下来, 最后精子球成为一中空的球, 历时 120h。

关键词: 褶纹冠蚌; 精子球; 超微结构

中图分类号: S966.22 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2003)05-0527-004

淡水蚌类属“体内受精”, 即精子与卵子在雌蚌体内结合成受精卵后, 胚胎一直在雌蚌外鳃腔内发育成成熟的钩介幼虫, 然后由雌蚌出水管排出^[1]。在一些软体动物中, 已有人报道过精子在精巢中发育成熟后形成精子球, 再由出水管排出^[2,3]。褶纹冠蚌在繁殖期也形成精子球, 但其形态和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, 深受人们的喜爱。作者已对褶纹冠蚌精子发生的超微结构及成熟精子的形态结构进行了研究^[4,5]。在此基础上研究褶纹冠蚌精子球的超微结构, 不但能积累蚌类生殖生物学的基础资料, 而且对促进蚌类人工繁殖工作的深入开展具有十分重要的现实意义。

1 材料与方法

1.1 材料 性成熟的雄性褶纹冠蚌, 2000年12月下旬购于淮北市农贸市场, 实验室暂养, 水温控制在7—10 $^{\circ}\text{C}$, 让其自然排出精子球。收集后, 一部分精子球留作光镜观察, 另一部分离心得沉淀物, 按下列方法处理。

1.2 透射电镜制样 一部分沉淀物用4%戊二醛(0.1mol/L磷酸缓冲液配制)固定4h, 缓冲液洗, 1%锇酸后固定1.5h, 缓冲液洗, 丙酮系列脱水, Epon

812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。

1.3 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。

1.4 光镜制样 取精子悬浮物直接制成水装片, Olympus BX-60显微镜(带相差装置)观察并摄影。

精子球内容纳精子数的计算

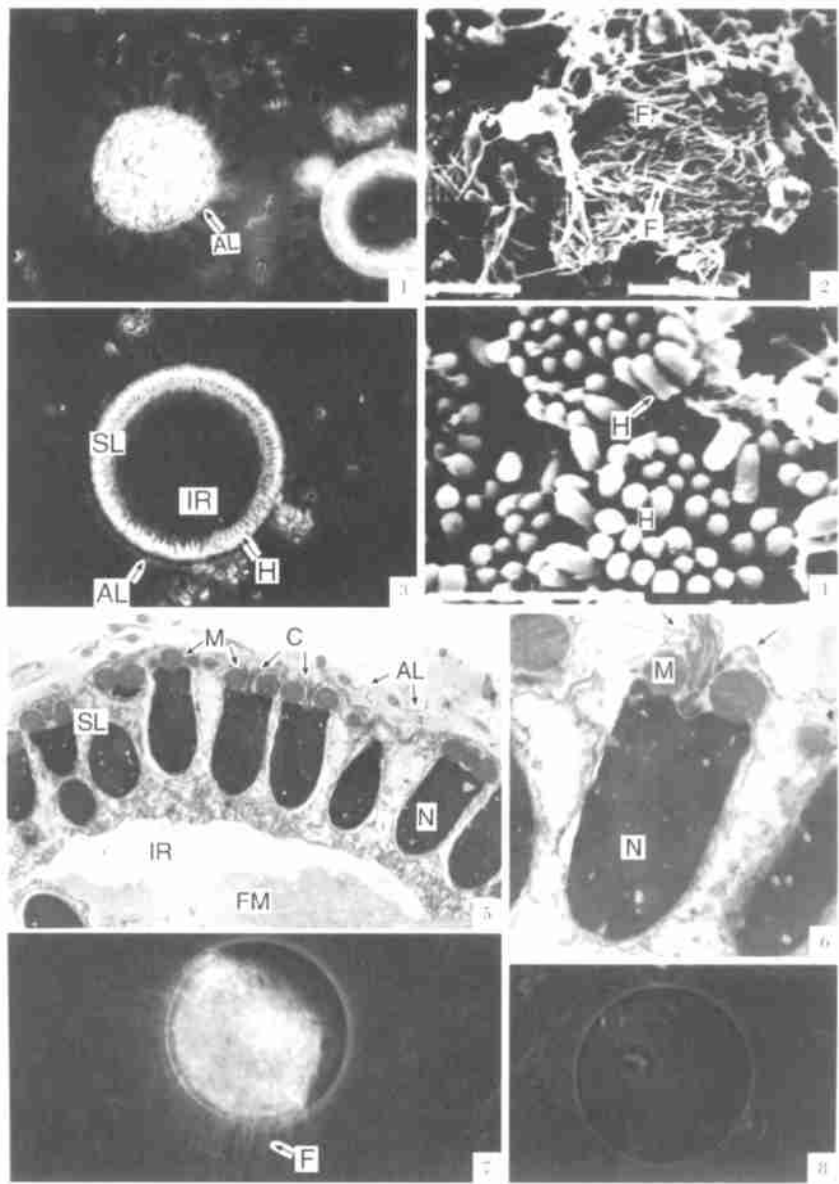
$$N \approx \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{V_R - V_R'}{V} \approx \frac{4}{3n} \sum_{i=1}^n \frac{R^3 - (R')^3}{r^2 l}$$

其中 N 为精子球内容纳的精子数; V_R 为精子球的体积; V_R' 为精子球内部区的体积; V 为单个精子的体积; n 为精子球的个数; R 为精子球的半径; R' 为精子球内部区的半径; r 为单个精子的半径; l 为单个精子的头部长度。

2 结果

2.1 精子球的形态

光镜和扫描电镜表明: 精子球呈球形, 直径约 65—70 μm , 容纳 2300 个以上的精子(图版 I: 1, 2)。精子头部呈子弹头形, 长约 2.6 μm , 直径约 1.5 μm , 位于精子球表面层内, 而精子鞭毛长约 37—40 μm , 由精子球表面伸出(图版 I: 2, 3, 4)。精子球外被一



图版 I

1 完整精子球的相差照片。× 280; 2 精子球的扫描电镜照片, 示精子鞭毛从精子球表面伸出。× 2, 620; 3 精子球的相差照片, 箭头示精子头部。× 400; 4 不完整精子球的局部扫描电镜照片, 示精子头部垂直地排列在精子球表面。× 5, 200; 5 不完整精子球透射电镜照片, 示不连续的非细胞层、包埋在表面层内的精子头部及内部区。× 6000; 6 放大的透射电镜照片, 示单个的精子头部包埋在单个的小室内, 箭头示精子质膜在鞭毛领处与表面层相连。× 15, 000; 7 不完整精子球的相差照片。× 520; 8 相差照片示不含精子的精子球。× 400

1 Phase micrograph of a fully populated sperm ball. × 280; 2 Scanning electron micrograph (SEM) of sperm ball shows the sperm flagella project from the surface. × 2, 620; 3 Phase micrograph of a sperm ball, arrows shows an individual sperm head. × 400; 4 SEM of a portion of a partially populated sperm ball shows the sperm heads display perpendicular in the periphery of sperm ball. × 5, 200; 5 Transmission electron micrograph (TEM) of a portion of a partially populated sperm ball shows no sequential acellular layer, surface layer and internal region. × 6, 000; 6 The higher magnification of TEM shows a single sperm head embedded in an individual chamber, arrows show that the sperm plasmalemma is contact with the surface layer in flagellar collar. × 15, 000; 7 Phase micrograph of a partially populated sperm ball. × 520; 8 Phase micrograph shows a sperm ball which has no sperm. × 400

AL: A cellular layer (非细胞层) C: Flagellar collar (鞭毛领) F: Flagellum (鞭毛) FM: Flocculent material (絮状物质) H: Head (精子头部) IR: Internal region (内部区) M: Mitochondrion (线粒体) N: Nucleus (细胞核) SL: Surface layer (表面层)

层厚约 0.6 μm 的非细胞层, 后因精子的脱落而逐渐变得不连续(图版 I: 1, 3, 5)。

2.2 精子球的内部结构

光镜和透射电镜显示: 精子球由非细胞层、表面层和内部区三部分组成。非细胞层薄, 厚约 0.6 μm , 无细胞成分, 易碎, 后因精子的脱落而呈不连续状(图版 I: 3, 5)。表面层厚约 7.5 μm , 被分隔成许多辐射状排列的小室, 单个精子头部分别位于小室内, 指向精子球的中央, 而精子鞭毛从精子球的表面伸出(图版 I: 3, 5)。精子质膜在鞭毛领处与表面层紧密相连(图版 I: 6), 精子质膜有时与精子核分离开来, 与表面层相接触, 但相邻精子间无细胞质桥相连。内部区位于精子球表面层以内的广大空间, 呈球状, 直径约 57—62.5 μm , 内含电子密度低的絮状物质(图版 I: 3, 5)。

2.3 精子球在淡水中的形态变化

光镜连续检查发现: 精子球刚从雄蚌出水管中排出时为一完整的结构, 几乎所有的鞭毛均沿固定方向不停地摆动(图版 I: 1), 至使整个精子球呈翻滚式向前运动, 运动较快。30min 后, 有部分精子球变得不完整, 单个精子逐渐从精子球表面层中脱落下来。3h 后, 少数精子球中的 1/3—1/2 精子已脱落。因一侧精子的失去, 精子球变为向前推动运动, 运动变慢(图版 I: 7)。4.5h 后, 极少数精子球中的精子已全部脱落, 只剩下一层厚约 3 μm 、内部为中空的结构(图版 I: 8)。连续观察 90h 后, 大多数精子球中仍有少量的精子在不停地运动, 并有一定数量的空球状结构。120h 后, 绝大部分精子球中的精子已全部脱落, 144h 后, 已观察不到运动的精子球, 说明精子脱落运动已全部结束。

3 讨论

与其他软体动物双壳类精子球的结构基本相同^[2,3], 褶纹冠蚌精子球具有以下特征: ①精子球由非细胞层、表面层和内部区三部分组成, 非细胞层不含细胞成分; ②表面层被分隔成许多辐射状排列的小室, 单个精子头部分别位于小室内, 精子鞭毛从精子球表面伸出; ③精子质膜在鞭毛领处与表面层相连, 相邻精子间无细胞质桥相连。研究还发现, 褶纹冠蚌精子球的非细胞层薄, 随着精子的脱落而逐渐变得不连续, 表面层较厚, 但当精子全部从精子球上脱落后变成一薄层。内部区占精子球的大部分, 内含电子密度低的絮状物质。

在软体动物双壳类中, Rocha 等曾报道多核结构

出现在 *Anodonta cygnea* L 精子发生早期, 并贯穿在精子发生的过程中^[6]。Dorange 等研究发现 *Pecten maximus* 精子发生中也出现多核结构, 但他认为多核结构将产生畸形的精子, 且最终死亡^[7]。杜世章等人发现椭圆背角无齿蚌的精子发生存在两种方式, 其中一种方式是以形成合体群团的方式发生, 合体群团形成成熟精子后聚集成一个精子球, 并认为合体群团可能来源于多核结构^[8]。作者在研究褶纹冠蚌精子发生时发现精子发生的早期便存在大量的多核结构, 且多核结构和细胞质桥自始至终贯穿在褶纹冠蚌的精子发生过程中, 并认为由多核结构发育而来的精子不会出现畸形^[4]。作者进一步研究发现, 在褶纹冠蚌繁殖高峰期, 精巢中出现较大数量的合体群团, 且大量的精子团产生后由出水管直接排出到外界水体中。因此, 作者认为褶纹冠蚌精子球来源于合体群团, 而合体群团可能来源于精子发生早期的多核结构, 这与杜世章等人的研究结果相一致^[8], 而与 Dorange 等的结论相反^[7]。以合体群团方式产生成熟的精子也出现在肝片吸虫的精子发生过程中^[9]。

光镜连续观察发现, 褶纹冠蚌精子球排到外界水体后, 在精子鞭毛的不停摆动下, 精子球作翻滚式或推进式向前运动, 精子将各自从精子球中脱落下来。精子球从完整结构到精子全部脱落大约经历 120h, 有的只需 5h 左右。作者曾检查褶纹冠蚌喷出物时发现, 喷出物中既存在发育的胚胎又含有少量运动着的精子球。因此, 作者认为精子球存在的时间较长, 而且精子球中的精子数目较多, 这与褶纹冠蚌精子和卵在雌蚌体内受精、受精卵在雌蚌外鳃腔中发育相关。这有助于延长精子在体外的运输和存活时间, 从而增大了精卵结合——受精的机会, 这对褶纹冠蚌种的繁衍后代有重要意义。

参考文献:

- [1] 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
- [2] Coe W R. Spermatogenesis in the California Oyster (*Ostrea lurida*) [J]. *Biol. Bull.* 1931, **61**: 309—315
- [3] Lynn J W. The ultrastructure of the sperm and motile spermatozeugmata released from the freshwater mussel *Anodonta grandis* (Mollusca, Bivalvia, Unionidae) [J]. *Can. J. Zool.* 1994, **72**: 1452—1461
- [4] Deng D G Tan Q K. Ultrastructural studies of spermatogenesis of the freshwater mussel, *Cristaria plicata* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2000, **24**(1): 63—66. [邓道贵, 谈奇坤, 褶纹冠蚌精子发生的研究[J]. 水生生物学报, 2000, **24**(1): 63—66]
- [5] Deng D G Tan Q K. Studies on ultrastructure of the sperm of freshwa

ter mussel, *Cristaria plicata* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2001, **25**(5): 481—485. [邓道贵, 谈奇坤. 褶皱冠蚌精子的超微结构研究[J]. 水生生物学报, 2000, **25**(5): 481—485]

[6] Rocha E, Azevedo. Ultrastructural study of the spermatogenesis of *Anadonta cygnea* L. (Bivalvia, Unionidae)[J]. *Invert Reprod and Devel op.* 1990, **18**(3): 169—176

[7] Dorange G and Lepernes M Ultrastructural characteristics of spermatogenesis in *Pecten maximus* (mollusca, Bivalvia)[J]. *Invert. Reprod and Develop.* 1989, **15**: 109—117

[8] Du S Z, Shi A J, Chen W Q. Spermatogenesis of *Anodonta woodana elliptica* [J]. *Journal of Sichuan University* (Natural Science Edition), 1994, **31**(Suppl): 194—199. [杜世章, 石安静, 陈维琼. 椭圆背角无齿蚌的精子发生[J]. 四川大学学报(自), 1994, **31**(专辑): 194—199]

[9] Gong R C, Li B F, Zhu H Q. The syncytial cluster forms in spermatogenesis in *Fasciola p.* *Acta Zoologica Sinica.* 1992, **38**(1): 1—5. [龚荣慈, 李必富, 朱辉清. 肝片吸虫精子发生中的合体群团方式[J]. 动物学报, 1992, **38**(1): 1—5]

THE MORPHOLOGICAL AND ULTRASTRUCTURAL STUDY OF THE SPERM BALL OF FRESHWATER MUSSEL, *CRISTARIA PLICATA*

DENG Dao Gui

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

Abstract: The morphology and ultrastructure of the sperm ball of *Cristaria Plicata* was studied under light and electron microscope. The results show that the sperm ball is spherical, which is about 65—70 μm in diameter and contains up to 2300 sperms. From outer to inner, the sperm ball is composed of acellular layer, surface layer and internal region. The acellular layer is 0.6 μm in width, which is brittle. The 7.5 μm surface layer is partitioned into many radial chambers. Each sperm head is embedded in a chamber which points to the center of sperm ball, while the flagellum which is 37—40 μm long extends away from the surface of sperm ball. The sperm plasmalemma is in contact with the surface layer in flagellar collar, no cytoplasmic bridges is observed inter connecting sperm. The internal region is spherical and about 57—62.5 μm in diameter, which contains low electron dense flocculent material. The morphological diversification of the sperm ball in freshwater was observed under light microscope. After the sperm balls are released from outer water tube of the male *C plicata*, the rotational and progressive motility is achieved by sequential flagellar beat in a definite direction. When the sperm ball is barely released from outer water tube of the male *C plicata*, the sperm ball is a whole structure and moves quicker. After thirty minutes a handful of sperm balls became half-baked. After three hours almost 50% sperms in few of sperm balls had been released, its direction became driving movement ahead because of disappearance of a single side sperms and its speed became lower. After four and half hours sperms in tiny sperm balls had completely been released, they became a hollow-spherical structure. It was continuously observed after ninety hours, most sperm balls contained a few of sperms which moved ceaselessly, and existed also a certain number of hollow-spherical structure. On hundred and twenty hours after it was observed one hundred and twenty hours later, sperm in almost all sperm balls had completely been released.

Key words: *Cristaria plicata*; Sperm ball; Ultrastructure