

## 褐蚶(*Didimarca tenebrica*)精子的超微结构

杜 晨, 龙玲利, 盛 樟, 竺俊全\*

(宁波大学 教育部应用海洋生物技术重点实验室, 浙江 宁波 315211)

**摘要:** 应用透射电镜技术观察了双壳纲蚶科贝褐蚶精子的超微结构。研究结果显示: 褐蚶精子由头部与尾部两部分组成。头部由顶体和细胞核构成, 顶体在核的前端呈圆锥形, 内部充满较高电子密度物质, 顶体下腔内物质呈颗粒状分布; 细胞核呈圆桶状, 内部物质致密、电子密度高, 无核前窝, 但具核后窝。尾部由短的中段和细长的末段组成, 中段由 4 个圆形线粒体环绕近端与远端中心粒构成; 末段由轴丝及其外包的质膜组成, 轴丝为“9+2”微管结构。

**关键词:** 褐蚶; 精子; 超微结构

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2015) 03-0001-04

动物精子的形态结构具有种的特征, 精子结构比较研究对认识与探讨种间系统发生关系, 具有一定的参考价值<sup>[1-4]</sup>。精子结构与受精相关, 是受精细胞学研究内容之一。蚶科动物是双壳贝类中的一大类群, 我国约有 60 多种。笔者已经采用透射电镜技术对泥蚶(*Tegillarca granosa*)<sup>[5]</sup>、青蚶(*Barbatia virescens*)和毛蚶(*Scapharca subcrenata*)<sup>[6]</sup>、魁蚶(*Scapharca broughtoni*)<sup>[7]</sup>及橄榄蚶(*Estellarca olivacea*)<sup>[8]</sup>等种类的精子超微结构进行了观察研究, 分析了种间精子结构的细微差异, 其中精子顶体、核及中段结构变化能显示蚶科种属之间的亲缘关系。在蚶科贝生殖进化过程中, 精子顶体的演变体现在其形态及其内容物的变化上, 核的形态尤其是核前窝与核后窝结构的有无及其形态反映了种间联系的进化特征。

褐蚶(*Didimarca tenebrica*)为双壳纲、蚶科动物之一<sup>[9]</sup>, 栖息于潮间带中、下区至潮下带水深 20 m 左右的泥沙石砾中, 广布于印度洋及太平洋西部沿岸, 我国沿海均产之, 具有一定的食用、经济价值。目前, 褐蚶的生物学研究甚少, 精子结构研究未见报道。笔者采用透射电镜技术观察了褐蚶精子的超微结构, 并与以往报道的蚶科动物精子超微结构进行了比较, 旨在为蚶科软体动物种

间关系分析及生殖进化的研究提供参考, 也为该物种受精生物学研究积累基础资料。

### 1 材料与方法

精巢发育成熟的褐蚶于 7 月采自浙江南麂岛潮间带, 共 50 个, 壳高 12~13 mm, 壳长 18~19 mm。样品贝活体带回宁波大学水生动物实验室, 解剖取成熟精巢, 切成 2~3 mm 见方的小块, 置于 5 mL 离心管中, 用 3%戊二醛(用 pH 为 7.4 的 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 磷酸缓冲液配制)前固定 2~3 h (4 °C), 然后用 1%锇酸后固定 2~3 h (4 °C), 乙醇逐级梯度浓度脱水后, 用环氧树脂 Epon812 进行渗透并包埋。包埋块样品经修整后在超薄切片机(LKB-III型)上进行切片。超薄切片经铀染和铅染, 在透射电镜(日立 H-7650 型)上进行观察并拍照。

### 2 结果与分析

透射电镜观察显示, 褐蚶精子由头部及尾部组成, 头部由顶体与核构成, 尾部分为短的中段与细长的末段。

#### 2.1 顶体

位于核的前端, 长约 0.74 μm; 顶体不同角度的纵切面观显示呈高矮不同的锥形结构、横切面观

收稿日期: 2015-02-27.

宁波大学学报(理工版)网址: <http://journalg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 国家星火计划项目(2011GA701001); 宁波市自然科学基金(02J20102-18)。

第一作者: 杜晨(1989-), 男, 山东青岛人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 水产生物学。E-mail: 8788182@163.com

\*通信作者: 竺俊全(1964-), 男, 浙江嵊州人, 教授, 主要研究方向: 水产生物学。E-mail: zhujunquan@nbu.edu.cn

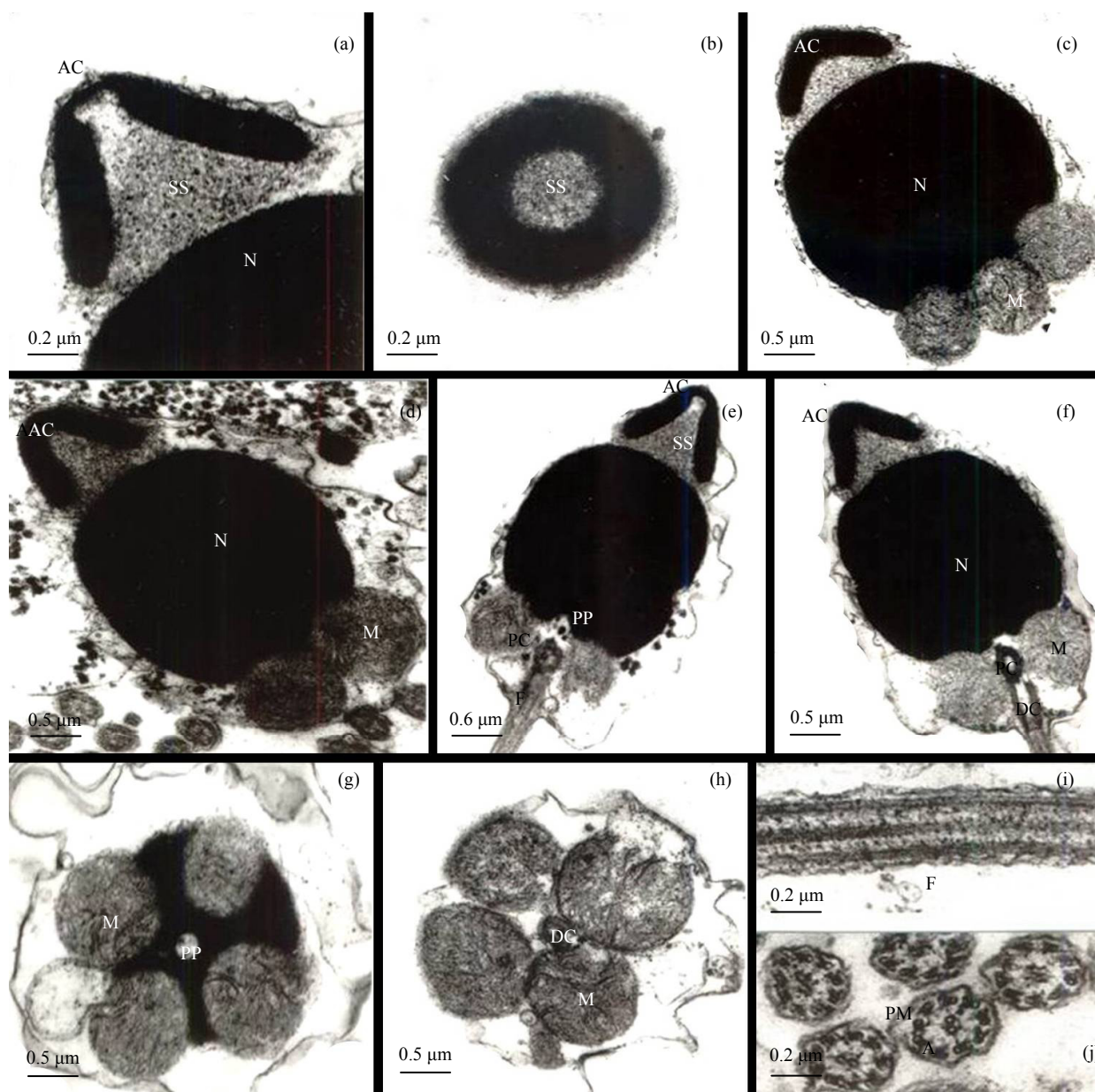
显示呈圆形,顶体的顶端较圆钝;顶体的外周由质膜包被,其内部充满较高电子密度物质,内含丰富的水解酶类可在顶体反应时释放出来,溶解卵子的外膜,从而有利于精子入卵.顶体与核之间的腔称为顶体下腔或亚顶体腔,该腔近核端较宽,向前渐变窄,顶端略膨大.腔内分布颗粒状物质,内含球状肌动蛋白,可在顶体反应时形成顶体突起或顶体丝,协助精子入卵(图 1(a)~(f)).

## 2.2 细胞核

纵切面观显示呈圆桶状,内部物质(染色质)致密、电子密度高,核的这种固缩状态有利于精子快速运动及进入卵子.核平均长度约  $1.74\ \mu\text{m}$ ,宽与长基本相同.无核前窝,但具有一浅的核后窝,近端中心粒在靠近核后窝处(图 1(c)~(g)).

## 2.3 中段

纵切面显示,2个或3个圆形线粒体嵌在核后



(a)为精子顶体纵切面;(b)为精子顶体横切面;(c)和(d)为精子头部与中段纵切面;(e)和(f)为精子纵切面;(g)和(h)为精子中段横切面;(i)为精子尾部鞭毛纵切面;(j)为精子尾部鞭毛横切面.其中AC为顶体;SS为顶体下腔;N为核;M为线粒体;PC为近端中心粒;DC为远端中心粒;PP为核后窝;PM为质膜;F为鞭毛;A为轴丝

图1 褐蚶精子的超微结构

端; 横切面显示, 4 个线粒体环绕着近端中心粒与远端中心粒, 线粒体是精子运动的能量来源。近端中心粒长方向与精子的纵轴方向及远端中心粒长方向垂直, 远端中心粒末端向后延伸出轴丝(图 1(e)~(h))。

#### 2.4 末段

细长鞭状, 纵切及横切面显示由轴丝及其外包的质膜组成, 轴丝是由远端中心粒发出的微管所形成, 为典型的“9+2”结构, 即中心由 2 根微管组成, 周围环绕着 9 组双微管结构(图 1(e)、(i)、(j))。末段是精子的运动器官, 可使精子发生鞭毛运动, 在受精过程中游向卵子。

### 3 讨论

具锥形顶体是多数双壳纲动物精子的共有特征, 但顶体的大小与形态、顶体下腔的形态结构特征与物质分布等方面存在种间差异。如翡翠贻贝(*Perna viridis*)精子顶体特别发达而延长, 长 2.1~2.4  $\mu\text{m}$ , 内部分布中等电子密度的物质, 在紧贴顶体外膜内侧有一圈电子密度较高区域; 顶体下腔中央有一中轴结构, 其周围的亚顶体物质为不均匀分布的低电子密度的絮状物<sup>[10]</sup>。中国绿螂(*Glaucomya chinensis*)精子顶体呈倒 V 字形, 长约 0.8  $\mu\text{m}$ , 内部均布较高电子密度物质, 顶体下腔内均布低电子密度物质<sup>[11]</sup>。栉孔扇贝(*Chlamys farrei*)精子的顶体呈圆锥形, 长约 0.7  $\mu\text{m}$ , 内含电子密度高而均布的颗粒物质; 顶体下腔中为疏松的低电子密度物质<sup>[12]</sup>。缢蛏精子顶体呈保龄球状, 长约 1.1  $\mu\text{m}$ , 通过细长的顶体柄与细胞核相连; 顶体内部较均匀分布电子密度较高的物质, 顶体下腔中均布低电子密度物质<sup>[13]</sup>。上述几种贝类分属不同科, 精子顶体大小与形态结构上存在较明显差异。在蚶科动物中, 泥蚶、毛蚶及魁蚶精子的圆锥形顶体的形态与大小十分相似, 但长与宽比例稍有差别<sup>[5-7]</sup>。青蚶<sup>[6]</sup>精子顶体呈伞状, 其上有横纹结构, 与泥蚶<sup>[5]</sup>、毛蚶<sup>[6]</sup>、魁蚶<sup>[7]</sup>、橄榄蚶<sup>[8]</sup>及褐蚶精子顶体无横纹结构不同; 橄榄蚶精子的圆锥形顶体体积明显较小<sup>[8]</sup>。本研究的褐蚶精子顶体也呈圆锥形, 与泥蚶<sup>[5]</sup>及毛蚶<sup>[6]</sup>精子顶体形态较为相似, 但在顶体的大小与长宽比例上有一定差异。泥蚶<sup>[5]</sup>、毛蚶<sup>[6]</sup>及魁蚶<sup>[7]</sup>精子顶体下腔内物质都较集中分布

于腔中央区, 而橄榄蚶<sup>[8]</sup>、青蚶<sup>[6]</sup>精子顶体下腔内物质较均匀分布, 褐蚶精子顶体下腔内物质形态与分布同青蚶及橄榄蚶。可见, 蚶科贝精子顶体大小、顶体及顶体下腔的形态结构特征可作为鉴别种的辅助依据, 也是探寻蚶科生殖进化的重要依据。另外, 顶体是蚶科贝精子结构组成中最重要的部分之一, 是受精的结构基础, 在受精过程中, 通过顶体反应释放顶体酶, 同时顶体下腔中物质聚合成顶体丝或顶体锥, 协助精子快速入卵。

双壳纲动物精子核的形态一般呈圆桶或圆柱状, 核物质浓缩、致密而均布, 种间精子核的结构差异主要体现在其大小和长宽比例, 以及有无核前窝、核后窝及核泡<sup>[3-4]</sup>。如翡翠贻贝精子核近球形(圆桶状), 长约 1.2  $\mu\text{m}$ , 核内颗粒状染色质高度凝集致密, 有核泡<sup>[10]</sup>。中国绿螂精子核呈圆桶状, 长约 4  $\mu\text{m}$ , 无明显核前窝, 但有一碗状核后窝, 核内物质高度浓缩致密, 有核泡<sup>[11]</sup>。栉孔扇贝精子核呈柱状, 长约 3.6  $\mu\text{m}$ , 上端稍窄、下端较宽, 核内染色质致密, 可见不规则的核泡, 具马蹄形核前窝及 V 字形核后窝<sup>[12]</sup>。缢蛏精子的核为矮圆桶状, 长约 1.3  $\mu\text{m}$ 、宽约 1.8  $\mu\text{m}$ , 无核前窝, 但具圆弧形核后窝, 核质致密, 有核泡<sup>[13]</sup>。在蚶科动物、褐蚶、泥蚶<sup>[5]</sup>、毛蚶与青蚶<sup>[6]</sup>、魁蚶<sup>[7]</sup>、橄榄蚶<sup>[8]</sup>等精子核均为圆桶状, 但核长与核宽比略有差异, 青蚶精子有核前窝与核后窝, 其他 5 种蚶精子无核前窝、只具核后窝。可见, 蚶科贝精核的形态及尺寸也可作为区别种的特征之一, 特别是核前窝和核后窝结构可作为蚶科贝重要的生殖进化特征<sup>[6]</sup>。

双壳贝类精子中段线粒体数目一般为 4~6 个, 形态呈卵圆形或圆形<sup>[3-4]</sup>。在蚶科动物的泥蚶精子中段线粒体的数目仅 5 个<sup>[5]</sup>, 毛蚶<sup>[6]</sup>、魁蚶<sup>[7]</sup>及橄榄蚶<sup>[8]</sup>精子中段线粒体数目常见 5 个、偶见 4 个, 青蚶精子中段线粒体数目常见 5 个、偶见 6 个<sup>[6]</sup>。本研究的褐蚶精子中段只见 4 个线粒体, 可见, 蚶科贝精子中段线粒体数目有变异, 是区别种与种之间的辅助依据, 也是研究蚶科贝生殖进化的重要特征之一。另外, 中段线粒体是游动型精子的动力源, 蚶科贝精子中段线粒体发达, 能为精子离体后长时间运动提供能量保证, 体现了蚶科贝对潮间带多变的繁殖生态环境的较强适应性, 保证了繁殖时精子游向卵子并完成受精。

## 参考文献:

- [1] Hodgson A N, Bernard R T. Ultrastructure of the sperm and spermatogenesis of three species of *Mytilidae* (Mollusca, Bivalvia)[J]. Gamete Res, 1986, 15:123-135.
- [2] 柯才焕, 周时强, 田越, 等. 三种鲍精子超微结构的比较[J]. 海洋学报, 2003, 25(3):138-142.
- [3] 竺俊全, 杨万喜. 双壳类软体动物精子发生及其在系统演化研究中的应用前景[J]. 海洋湖沼通报, 2002, 4: 25-31.
- [4] 焦海峰, 尤仲杰, 竺俊全. 软体动物精子的超微结构及其分类学意义[J]. 宁波大学学报: 理工版, 2004, 17(4): 414-418.
- [5] 竺俊全, 杨万喜, 石钢德. 泥蚶精子的超微结构[J]. 浙江大学学报: 理学版, 2002, 29(3):324-328.
- [6] 竺俊全, 杨万喜. 毛蚶与青蚶精子超微结构及其所反映的蚶科进化关系[J]. 动物学研究, 2004, 25(1):57-62.
- [7] Zhu J Q, Hans U D, Yang W X. Ultrastructure of the mature spermatozoon of the bivalve *Scapharca broughtoni* [J]. Microm, 2008, 39(8):1205-1209.
- [8] Zhu J Q, Yang W X. Ultrastructure of the mature spermatozoon of the bivalve *Estellarca olivacea*[J]. Acta Biologica Hungarica, 2009, 60(1):27-34.
- [9] 徐风山. 中国海双壳类软体动物[M]. 北京: 科学出版社, 1997:19-33.
- [10] 柯佳颖, 饶小珍, 陈寅山. 翡翠贻贝精子的超微结构[J]. 动物学杂志, 2005, 40(2):66-70.
- [11] 余红卫. 中国绿螂精子的超微结构[J]. 动物学杂志, 2010, 45(6):101-105.
- [12] 任素莲, 王如才, 王德秀. 栉孔扇贝精子超微结构的研究[J]. 青岛海洋大学学报, 1998, 28(3):387-392.
- [13] 竺俊全, 丁理法, 冯坚, 等. 缢蛏精子的形态结构[J]. 宁波大学学报: 理工版, 2008, 21(3):310-313.

Ultrastructure of Spermatozoa of *Didimarcia tenebrica*

DU Chen, LONG Ling-li, SHENG Zhang, ZHU Jun-quan\*

(Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology, Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

**Abstract:** The ultrastructure of the spermatozoon of *Didimarcia tenebrica* is observed using the transmission electronic microscope. The mature spermatozoon consists of two parts, i.e., a head and a tail. The head is formed by an acrosome and a nucleus. The contents in the cone-shaped acrosome is homogeneous, and the subacrosomal space is filled with granular materials. The cylindrical nucleus is highly condensed. Unlike the front nuclear pocket, the posterior nuclear pocket can be observed in nucleus. The tail is composed of a short mid-piece and a flagellar-shaped end-piece. Four round-shaped mitochondria and a distal centriole make up the mid-piece. The end-piece consists of an axoneme and its surrounding plasma membrane. The axoneme has a typical 9+2 structure.

**Key words:** *Didimarcia tenebrica*; spermatozoon; ultrastructure

(责任编辑 史小丽)