

中国对虾精子的形态结构、生理生化功能的研究

I. 精子的超显微结构*

林勤武 刘瑞玉 相建海

(中国科学院海洋研究所, 青岛, 266071)

提要 于1988—1989年, 对中国对虾的成熟精子用透射电镜和扫描电镜进行了超微结构的研究, 结果表明, 中国对虾精子系单一棘突类型, 主要由前端棘突、中间帽状体和后主体部构成; 精子没有尾部, 缺少线粒体, 不主动运动。比较了来自雄虾体内和雌虾纳精囊内精子的相异之处, 发现: (1) 雄虾体内精子较粗短, 棘突有螺旋结构, 而雌虾纳精囊中的则相反; (2) 雄虾体内精子核后细胞质带结构更完整, 而雌虾纳精囊中精子核后细胞质带囊泡发达并常与质膜融合发生胞吐现象; (3) 雄虾体内精子核膜比雌虾纳精囊精子核膜完整; (4) 雌虾纳精囊精子的环状片层结构更发达。

十足类动物的精子不典型, 缺少鞭毛, 核松散, 不运动。依据形态可分为两类: (1) 从中央体部散发出若干棘突的精子, 如爬行亚目中的蟹、龙虾和螯虾; (2) 具有单一棘突的精子, 如游泳亚目中的各种虾类^[6,8]。更详尽的研究表明^[3,11], 此二组十足类精子在亚显微结构、细胞化学水平以及总体形态上都有较大差异。这些差异主要包括棘突的细胞学本质, 棘是否具有收缩蛋白, 核质本身和顶体的组成成分。相比而言, 关于爬行亚目的精子无论在光学显微镜水平、电子显微镜水平还是细胞化学的研究上都作了较多的工作^[1,3,7,9,11], 而游泳亚目的精子研究却较少^[5,8]。

本文报道了中国对虾成熟精子的亚显微结构, 特别注重了直接取自雄虾精英和取自雌虾纳精囊中精英的精子的异同的比较。

一、材料与 方法

中国对虾 (*Penaeus chinensis*) 系取自本所对虾越冬池中已经自然交配后的雌、雄个体, 分别取出纳精囊中精英和贮精囊中精英。

透射电镜 (TEM) 观察, 将精英用 2.5% 戊二醛 (0.2mol/L 磷酸缓冲液, pH = 7.4) 预固定 20min; 再分别切成 0.5mm 见方的小块, 以 2.5% 戊二醛再固定 1h, 然后用缓冲液

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 2026 号。中国科学院海洋研究所实验海洋生物开放实验室资助项目。
收稿日期: 1990 年 9 月 13 日。

冲洗24h以上;以1% 锇酸固定1h,用缓冲液冲洗24h;酒精系列脱水、渗透,Epson 812 包埋后超薄切片,染色后用 JEM-1200EX 透射电镜观察。

扫描电镜(SEM)观察,将精荚中精子作涂片、快速自然干燥后,用2.5% 戊二醛固定15min,缓冲液冲洗3次,时间在0.5—1h;丙酮系列脱水,醋酸异戊酯冲洗2次,将玻片放置在滤纸折成的小盒内,临界点干燥后喷金,用 TSE-840 扫描电镜观察。

二、结 果

光学显微镜观察表明,中国对虾精子高度极化,前端为一棘突,后端为主体部。电镜观察表明,精子可分成三部分:(1)后主体部;(2)中间帽状体;(3)前端棘突(图1和图版 I:1—4)。用 SEM 观察。可见取自雄虾体内的精子的棘突呈螺旋状(图版 I:2);帽状体的外观较平滑,棘突与帽状体相连部分常有阶梯状构造;后主体部核后质膜常出现破裂而导致内陷(图版 I:4)。通过 TEM 观察,可见精子的后主体部是由含有若干细胞器的细胞质带和中央是纤丝状结构的大而膨松的核构成(图版 I:3)。主体部前方是具有若干亚显微结构的帽状体,帽状体前端的延伸及突出部分则为棘突。取自雄虾的精子,长轴为 $8.4\mu\text{m}$,短轴为 $4.5\mu\text{m}$;而取自雌虾纳精囊中的精子长轴约 $10.0\mu\text{m}$,短轴约为 $4.0\mu\text{m}$ 。

1. 后主体部

主要由细胞质带和细胞核组成。细胞质带围绕精核,富含直径约 $100\text{\AA}$ 的高电子密度的颗粒物质。在主体部前端的细胞质带中可以看到内质网结构(图版 I:5),而在主体部两侧的细胞质带中,有若干囊泡和环状片层结构(图版 I:6—7)。环状片层是一种膜性细胞器,在形态上与内质网较相似,其基本结构单位类似于内质网的潴泡,是由双层膜围成的扁平囊状结构。环状片层由数目相异的片层结构平行排列而成,相邻片层之间的距离约 $80—100\text{nm}$,片层上的膜孔常常有规律地排列成行。在整体形态上,环状片层常表现为同心圆状(图版 I:7)。在许多情况下,它们又与细胞质带内的内质网相沟通。细胞质带中有大小不等的囊泡,直径为 $100—500\text{nm}$,它们被单位膜所围被,其内含有电子密度较细胞质带更低的颗粒物质(图版 I:6;图版 II:9,12,13)。常可以看到这些囊泡沿着细胞质带分布,形成了与精子胞质膜相邻的一层小泡(图版 II:9),有的地方,囊泡和细胞质膜相融合,这是由细胞自身的外分泌胞吐作用所致(图版 II:9,12)。细胞质带在核前膨大突出形成一梯型结构,高度为 $0.4\mu\text{m}$,宽约 $0.9\mu\text{m}$ 。其中有直径约 $100\text{\AA}$ 的颗粒状物质和较高电子密度的粗糙型内质网(图版 I:1,3;图版 II:11)。内质网常与环状片层、核膜相连续。紧靠内质网之处,常发育有直径为 $0.3\mu\text{m}$ 左右的微体,这些微体有时和前方帽状体的H型环状体相接。细胞核占据了后主体部的大部分区域,具明显的核膜(图版 I:1,3,7),核膜内包被了疏松、分散但具有较高电子密度的细纤丝状和絮状核物质(图版 II:8,9)。

2. 中间帽状体

中国对虾精子的帽状体至少由3种电子密度不同的结构组成。这些组分分别是位于棘突基部和H型环状体之前的肾形顶体颗粒(anterior granule),其长轴为 $1\mu\text{m}$ 、短轴为 $0.5\mu\text{m}$ 。顶体颗粒是较棘突电子密度低的无定型结构物质。围绕在顶体颗粒两侧和后端的是H型环状体,宽约 $0.7\mu\text{m}$,长约 $1\mu\text{m}$ 。在环状体两侧后缘是由电子密度与顶体颗粒

相似的无定型物质组成的膜囊结构(图 1;图版 II:10,11,14)。帽状体和后主体部被顶体内膜隔开,而顶体外膜和帽状体的质膜融合形成了 5 层的复合膜,覆盖在整个帽状体表面。在 SEM 下,帽状体外表比较光滑。

3. 前端棘突

中国对虾棘突较简单,由结构相异的膜状结构和棘突内质组成,其间未发现其它亚显微结构的组分,如微管、微丝等。棘突全长约 $3\mu\text{m}$,基部较粗,尖端渐细,这与锐脊单肢虾(*Sicyonia ingentis*)棘突的前后端大体等粗^[6],而与褐对虾(*Penaeus aztecus*)棘突末端具一膨大结节的形态相异^[4](图 1;图版 II:14)。

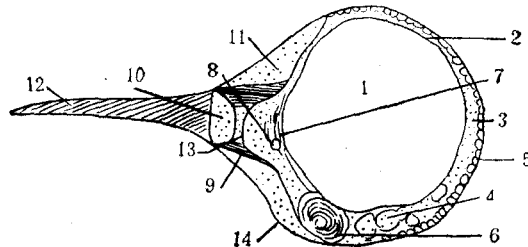


图 1 中国对虾精子模式图

Fig. 1 The spermatozoa mode in chinese shrimp *Penaeus chinensis*

后主体部: 1.精核; 2.核膜; 3.细胞质带; 4.大泡囊; 5.小泡囊; 6.环状片层; 7.内质网; 8.微体。中间帽状体: 9.H型环状体; 10.顶体颗粒; 11.膜囊; 12.前端棘突; 13.顶体内膜; 14.顶体外膜和质膜融合而成的 5 层膜。前端棘突: (12)棘突。

三、讨论与结论

1. 中国对虾精子没有尾部。在相当长一段时间内,对虾的精子被认为是具有尾部可以游动的^[2]。本研究结果不支持上述观点,而与 Clark 等人在锐脊单肢虾上研究的结果相似^[6],认为中国对虾精子没有尾部。在成熟的对虾精子甚至未发现过线粒体。由于对虾精子既不具备有运动的细胞器,又没有提供运动的能量来源,应该是不会主动游动的。

2. 中国对虾帽状体的 5 层膜是顶体外膜和质膜融合而成的,形成了棘突与膜囊的包被,这与锐脊单肢虾的^[6]类似。顶体颗粒具有与膜囊相同的电子密度,其侧面和后端为 H 型环状体所包;前侧是棘突的基部;其中是无定型基质,没有膜包被,这与单肢虾的前颗粒结构很相似^[6]。中国对虾成熟精子棘突和帽状体尽管电子密度不同,但它们有共同的膜状物,且二者连接处非常匀质,因此它们可能共同起顶体作用。Clark 等通过体外诱导精子顶体反应和精卵的受精过程研究表明,单肢虾和褐对虾精子的棘突是顶体复合体的一部分^[4,6],这也表明了许多十足类精子棘突的正常功能。

3. 来自雄虾体内和雌虾纳精囊的精子在形态和功能上均有区别。大家知道,具有封闭系统纳精囊的虾交配,发生在产卵前相当长一段时间。对单肢虾的研究表明,只有在雌性纳精囊中贮存一定时间的精子才具有受精能力^[6]。本研究的观察证实了取自雄虾贮精

囊的精子与取自雌虾纳精囊的精子是有一定差异的: (1)在 SEM 观察下, 取自雄虾体内的精子棘突呈螺旋圆锥形, 而取自雌虾纳精囊中精子不具螺旋结构; 在 TEM 观察下, 来自雄虾的精子相对较粗短, 而雌虾纳精囊内的精子较细长。(2)两种来源的精子其核后细胞质带也明显不同: 雄虾体内精子核后细胞质带结构完整, 而纳精囊中精子的该区域常出现凹陷(图版 1: 4), 即囊泡与精子质膜发生融合及胞吐作用, 有的精子核后部分出现了喇叭口。(3)雄虾体内精子的环状片层结构不发达, 而雌虾纳精囊精子的这一细胞器却比较发达, 大概与纳精囊中精子处于迅速的分化状态有关。(4)雄虾体内精子核膜比较完整, 而纳精囊中的不完整, 特别是核后区域的核膜往往缺失。这些不同与 Clark 等所推测的在雌虾纳精囊中“获能”(capacitation)的精子进行了顶体后区域物质和棘突形态结构修饰的结论^[6]相近。

参 考 文 献

- [1] 堵南山、赖伟、薛鲁征, 1987. 中华绒螯蟹精子的研究 I. 精子的形态及超微结构. 海洋与湖沼 18(2): 119—125.
- [2] 岡正雄, 1967. コウテイエビ *Penaeus orientalis* Kishinouye の研究 V. 授精と發生. 長崎大學水産学部研究報告 29: 71—88.
- [3] Brown, G. G., 1966. Ultrastructural studies of sperm morphology and sperm-egg interaction in the decapod *Callinectes sapidus*. J. Ultrastruct. Res. 14: 425—440.
- [4] Clark, W. H., P. Talbot and R. A. Neal et al., 1973. In Vitro Fertilization with the Non-motile Spermatozoa of the Brown Shrimp *Penaeus aztecus*. MMar. Biol. 22: 353—354.
- [5] Clark, W. H., M. G. Kleve and L. I. Yudin, 1981. An acrosomal reaction in natantian sperm. J. Exp. Zool. 218: 279—291.
- [6] Kleve, M. G., A. I. Yudin and W. H. Clark, 1980. Fine structure of the unistellate sperm of the shrimp, *Sicyonia ingentis*. Tiss. & Cell 12(1): 29—45.
- [7] Langreth, S. G., 1969. Spermiogenesis in cancer crabs. J. Cell Biol. 43: 573—603.
- [8] Lynn, J. W. and W. H. Clark, 1983. The fine structure of the mature sperm of the fresh water prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Biol. Bull. 164: 459—470.
- [9] Pochon-Masson, J., 1968b. L'ultrastructure des spermatozoïdes vésiculaires chez les crustacés décapodes avant et au cours de leur dévagination expérimentales II. Macroures, discussion et conclusions. Ann. Sci. Nat. Zool. Biol. Anim. Ser. 12(10): 367—454.
- [10] Shiggekawa K. and W. H. Clark, 1986. Spermiogenesis in the marine shrimp *Sicyonia ingentis*. Develop. Growth Differ. 28(2): 95—110.
- [11] Talbot, P. and R. G. Summers, 1978. The structure of sperm from *Panulirus*, the spiny lobster, *Homarus* with special regard to the acrosome. J. Ultrastruct. Res. 64: 341—351.

STUDIES OF THE MORPHOLOGICAL STRUCTURE AND PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL FUNCTIONS OF THE SPERMATOOA IN CHINESE SHRIMP *PENAEUS CHINENSIS*

I. ULTRASTRUCTURE OF THE SPERMATOOA*

Lin Qinwu, Liu Ruiyu (J. Y. Liu) and Xiang Jianhai
(Institute of Oceanology, Academia Sinica, Qingdao, 266071)

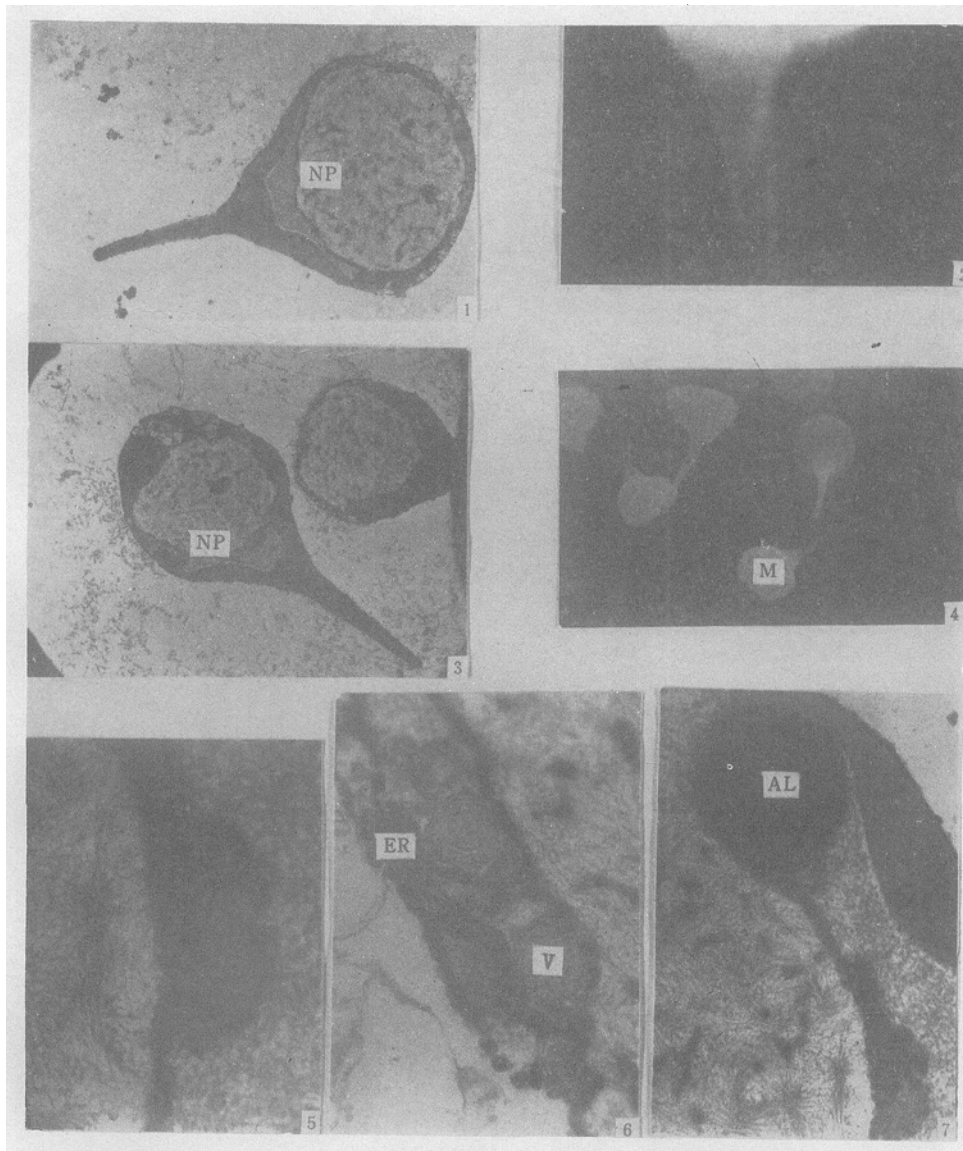
ABSTRACT

The ultrastructure of the spermatozoa in Chinese shrimp, *Penaeus chinensis* (Osbeck), was studied by scanning and transmission electronic microscopies. The samples were obtained from the seminal vesicle in male animals and from the seminal receptacle (thelycum) in females reared in the overwintering ponds of a shrimp farm during 1988—1989.

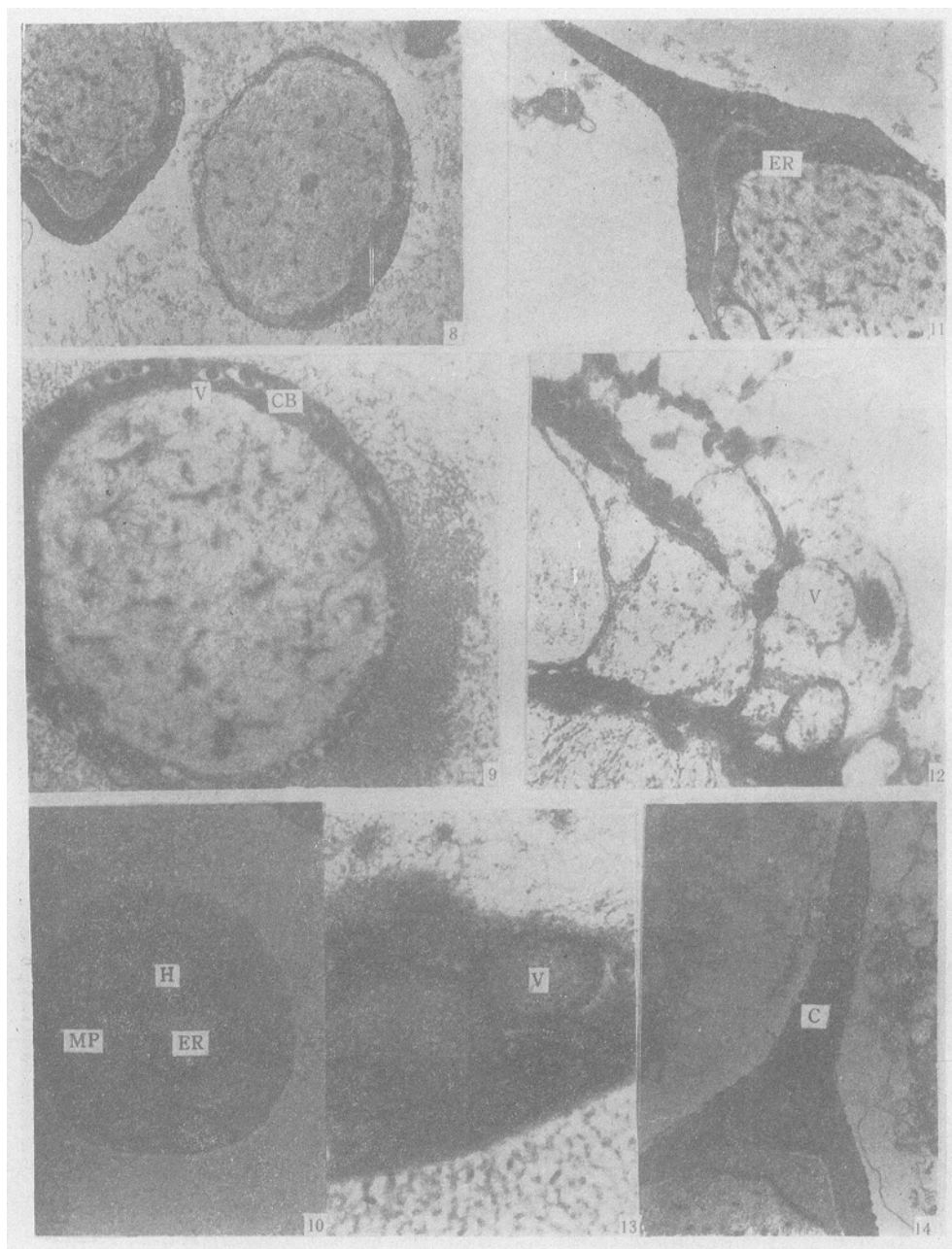
The unistellate spermatozoa of Chinese shrimp is of the non-motile type. It consists of three main parts: 1. The spike-anterior in position. 2. The cap-shaped part at the middle containing an anterior granule, a special H-shaped structure and membrane pouches. 3. The main-body part at the rear consisted of nucleus and a cytoplasmic band (CB) with vesicles, endoplasmic reticulum and annulate lamellae; but no mitochondrion is found in the matured spermatozoa. The cap-shaped part combines with the spike to form the acrosomal part of the spermatozoa.

In comparison with that taken from the thelycum in copulated females, the spermatozoa from the seminal vesicle in males has its own morphological characteristics: 1. Its shape is relatively shorter and thicker, possessing a spiral spike. 2. The structure of the cytoplasmic band is more intact, containing fewer vesicles than that from the females. 3. The annulate lamellae in CB is not so strong as that in spermatozoa from females. 4. The nuclear membrane is more intact than that of spermatozoa from females. All the morphological differences imply that capacitation process of spermatozoa may happen during its storage in the thelycum of copulated female.

* Contribution No. 2026 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica.



图版 (Plate) I 取自雄中国对虾的精子: 1. TEM 镜观察结果, 示完整的核膜 (NP), $\times 8\ 000$ 。
2. SEM 镜观察结果, 示前端棘突的螺旋状结构, $\times 43\ 000$ 。取自雌中国对虾纳精囊的精子, TEM 镜观察结果: 3. 残缺的核膜、发达的囊泡, $\times 6\ 000$ 。4. 前端棘突与中间帽状体相接部分的阶梯状结构和喇叭口状的后主体部(M), $\times 5\ 500$ 。5. 精子核前细胞质带的内质网, 注意内质网与核膜的部分融合, $\times 600\ 000$ 。6. 精子细胞质带中的内质网(ER)和囊泡(V), $\times 30\ 000$ 。7. 精子细胞质带中呈同心圆状的环状片层(AL), $\times 50\ 000$ 。



图版 (Plate) II 精子后主体部的横切面：8.取自雄中国对虾， $\times 8\,000$ ；9.取自雌中国对虾，示细胞质带(CB)中发达的囊泡(V)， $\times 10\,000$ 。10.中间帽状体的横切面，示无定型物质的膜囊(MP)、H型环状体、核前细胞质带的内质网， $\times 12\,000$ 。11.取自雄中国对虾精子的纵切面，示核前细胞质带中发达的内质网结构， $\times 10\,000$ 。12.精子细胞质带后的发达囊泡， $\times 60\,000$ 。13.囊泡中充满了较细胞质带电子密度为低的颗粒，囊泡外有单位膜包被， $\times 60\,000$ 。14. 精子的前端棘突(C)纵切面， $\times 15\,000$ 。