长江华溪蟹输精管的超微结构与精荚形成的研究*

王 兰 堵南山 赖 伟

(华东师范大学生物学系，上海 200062)

提要 于1993年9月—1994年8月，对采自安徽省宁国县的长江华溪蟹，利用电镜技术，并结合组织学和组织化学方法，研究其输精管的超微结构与精荚的形成过程，目的在于为深入研究华溪蟹的进化、受精生物学以及种质保存等提供必要的基础理论依据。结果表明：精子分别进入输精细管，被上皮细胞分泌物所包围；随着精子在管中的后移，分泌物不断增多增厚，最后将精子包围成团进而形成圆柱状精荚；精荚由精子群、精荚基质和精荚壁三部分组成；精荚壁单层，较薄；输精管上皮细胞单层，多核，一般2—5枚，核内具数个核仁；胞质内充满大量粗面内质网和高尔基复合体及其潴泡与小泡，泡内含絮状或颗粒状物质；游离核糖体随处可见；线粒体相对较少；输精细管形成精荚，贮精囊分泌精液并贮存精荚。

关键词 长江华溪蟹 输精细管 精荚

由于溪蟹终生在淡水中生活，它们有不少特性与海洋蟹类截然不同。雌性溪蟹产卵显然少于海洋蟹类，通常只100粒上下，且卵特别大，内含丰富的养料。但其雄性生殖细胞究竟有何特点，迄今为止，中外均未见报道。为深入理解溪蟹的演化历程，作者对长江华溪蟹的雄性生殖细胞进行了一系列的研究，本文先报道其输精管的超微结构与精荚的形成。

1 材料与方法

长江华溪蟹(*Sinopotamon yangtsekiense*)于1993年9月—1994年8月采自安徽省宁国县。根据生殖腺发育周期，每期处理雄蟹18—27只，雌蟹3只。雌蟹头胸甲平均宽29.80mm，长25.10mm。雄蟹大小见表1。

表1 雄蟹头胸甲大小测量(mm)(±0.02)结果

Tab.1 Carapace dimensions of the male crabs (*Sinopotamon yangtsekiense*)

月 份	8—11	12—2	3—5	5—7
宽 度	30.90	30.50	31.20	32.50
长 度	25.70	25.40	26.70	27.00

* 博士论文的一部分。王 兰，女，出生于1960年10月26日，博士，讲师。现在山西大学生命科学系工作。
收稿日期：1995年11月7日，接受日期：1996年2月22日。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.

处理时，先将蟹迅速杀死，取出雄性输精管，根据输精管从前到后直径大小的不同，将其分为三段，每段再切成小段，然后根据实验要求，分别固定。雌蟹则只取纳精囊。

电镜材料经双固定(2.5%戊二醛和1%锇酸)后，梯度乙醇脱水至90%。扫描电镜材料由90%乙醇脱水到100%，醋酸异戊酯置换，在Hitachi HCP－2临界点干燥仪上作临界点干燥，并用Eiko IB－3离子溅射仪喷金，Hitachi S－450扫描电镜观察。透射电镜材料由90%乙醇换丙酮脱水，618环氧树脂包埋，醋酸铀和柠檬酸铅双重染色，JEM－100 CXII透射电镜观察。

组织学材料用Bouin′s 液固定，常规石蜡切片，厚5—7μm，H·E染色，Olympus BH－2显微摄影。细胞和组织化学研究材料，用2.5%戊二醛、Carnoy′s或10%中性甲醛固定。Fuelgen反应显示胞核，阿利新兰－PAS反应显示多糖，汞－溴酚兰法显示蛋白质。

2 观察结果

2.1 雄性生殖系统的形态　长江华溪蟹的雄性生殖系统与一般蟹类一样，由一对精巢以及左右输精管、射精管和副性腺组成。输精管根据结构与功能的差异，分为前部输精管，也称输精细管(anterior vas deferens)和后部贮精囊(堵南山，1988)两部分。输精细管又分为前部输精细管和后部输精细管，其粗细和盘绕程度各不相同：前部连精巢，细而高度盘绕，向后则逐渐变粗，且少盘曲；后部与贮精囊相连。贮精囊直而肥大，用针戳开贮精囊就会流出白色的粘液，此即精液。贮精囊之后有细短的射精管。

2.2 输精管的组织学及组织化学　在光镜下观察横切的输精管石蜡切片，可见输精管管壁由单层上皮细胞构成，外围以结缔组织及基膜(BL)。上皮细胞(Ep)的形状随输精管的部位不同而呈长柱状、柱状或扁平状，愈近后端愈扁平。核(N)大，数目多，攒集在一起，通常每个细胞具2—5枚，核略靠近细胞远端部。每核有数个核仁。管壁的肌层(ML)从输精细管中部开始出现(图版I：1，2)。输精管上皮及细胞分泌物，由前向后嗜酸性逐渐增强，在贮精囊处达到最强。

2.3 输精管的超微结构及精荚的形成　输精细管前部长柱状的上皮细胞胞质内，充满大量粗面内质网(RER)及潴泡(Ci)，潴泡内含絮状物质(FM)(图版I:7)。在核的周围，粗面内质网较多(图版II：11)。高尔基复合体(GB)的数量少于粗面内质网的，在高尔基复合体的小泡内含颗粒状物质——囊泡(GV)。游离核糖体(Ri)在胞质内随处可见。但线粒体(M)相对较少，卵圆形(图版I：7)。

输精细管中部或后部柱状与扁平的上皮细胞胞质内，充满粗面内质网及其潴泡，较输精细管前部的多而密集。在部分区域出现分层排列的现象(图版II：16)。高尔基复合体在胞质内特别突出，数量明显多于输精细管前部，尤其在核的附近更是如此。在高尔基复合体周围有大量小泡(vesicle)，每个小泡或囊泡都含有不同程度的、中等电子密度的分泌物(Se)(图版I：6)。此外，线粒体的数量较输精细管前部多，通常出现在高尔基复合体附近，而游离核糖体有所减少(图版II：16)。

贮精囊上皮细胞扁平，尤其接近射精管处更加扁平。与输精细管明显不同之处首先在于这些上皮细胞内膨胀小泡(SV)增多(图版II：18)，泡内含有灰色絮状物质；其次高

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.

尔基复合体数量明显减少；线粒体也减少。输精细管和贮精囊管壁上皮内几种胞器的比较见表2。

表2　输精管管壁上皮几种胞器的比较

Tab.2　A comparison of some cell organs in epithelium of vas deferens of freshwater crab (*Sinopotamon yangtsekiense*)

细胞器	输精细管前部	输精细管中后部	贮精囊
粗面内质网(RER)	多	更多，且密集	膨胀小泡增多
高尔基体(GB，GV)	多	明显多，特别突出	明显减少
线粒体(M)　崮	相对RER，GB、GV少	较"前部"多	减少
游离核糖体(Ri)	多	有所减少	减少

雄蟹的输精细管、贮精囊和射精管一年无多大变化，而精巢的发育则有季节性变化。秋季所采雄蟹的精巢内精子(S)已经形成(图版I：5)，并依次进入输精细管内(图版I：1，2)。这时输精细管上皮开始分泌絮状物(图版I：3)，精子随机分布其中。这些分泌物是由粗面内质网和高尔基复合体及其潴泡与小泡合成的(图版I：6，7)。在潴泡内含絮状物，高尔基复合体囊泡中则出现颗粒状物。由潴泡和小泡形成的絮状泡或分层圆泡，有的单独存在，有的已聚集成团，形成一个个大的分泌泡群(SVM)(图版I：8)。在透射电镜下，分泌泡群由数个大小不同的絮状泡(FV)和分层圆泡(LCV)组成。泡与泡之间以及泡内均含有电子致密物质。这些泡的形状大多为椭圆形或卵圆形，个别为长条形，而且具有不同密度中心及泡表面含有致密物质(ED)的特性(图版I：8，9)。在输精细管管腔中，可见单个小泡游离于精子之间，作用后形成基质，将精子包被在内(图版I：10)。随着精子在输精细管中的后移，精子周围的分泌物也逐渐增多，将精子相互粘成一团(图版I:4)。这种分泌物也就是精荚基质(SM)(图版II:12—14)，基质同时包围在这团精子群(SM)外，形成精荚壁(SW)(图版I:4，8)。左右输精细管横切面上各有一个圆柱状精荚(spermatophore)，最后进入贮精囊内。

精荚进入贮精囊后，再次接受贮精囊上皮的分泌物，但这种物质是白色基质，即精液物质(图版II:17)。未发现在贮精囊管腔中内质网小泡释放物质的迹象。

2.4　精荚的形态、超微结构及组化性质

2.4.1　精荚的形态和超微结构　　长江华溪蟹的精荚圆柱状，由精子群、精荚基质和精荚壁三部分组成。以扫描电镜观察贮精囊横切面，可见精荚基质呈泡沫塑料状，所有精子都居于凹窝(Ho)中(图版II:14)。由于固定的缘故，有些精子脱出，留下空的小窝(图版II:13)。在交配后的雌蟹纳精囊内也可见到同样的结构，并且精子伸出辐射臂(RA)(图版II:15)。活体解剖雌蟹纳精囊，可见左右纳精囊内各有一个精荚。

精荚内各精子周围均由精荚基质包裹。精子的形态明显有别于其它蟹类(关于精子的超微结构另文报道)。精荚壁单层，较薄，电子密度中等，无特殊结构，由大量无细胞结构的纤丝及大小各异的絮状泡和分层圆泡组成(图版I:8)。絮状泡和分层圆泡两者的共性是外围都具有一层厚的电子致密物(TM)；特性是絮状泡内有中等电子密度的絮

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.

状物质，而分层圆泡内没有，呈球状(图版 I：9)。精荚基质与精荚壁相连续，精荚壁即外围的基质(图版 II：13)。

2.4.2 精荚的组化性质 精子群呈嗜碱性，Fuelgen 反应呈阳性。精荚基质和精荚壁均呈嗜酸性，可被阿利新兰和汞－溴酚兰着色。而絮状泡和同心圆泡均呈 PAS 强阳性反应。

3 讨论与结论

3.1 精荚的形态 Dudenhausen 等(1983)将十足类甲壳动物精荚的形状分为三种类型：柄状、管状和最简单的小的椭圆形状或球状。短尾部的精荚属第三种类型。这种类型的精荚由精子群和包被在精子群外的薄而无细胞结构的精荚壁组成。长江华溪蟹的精荚与上述描述的不甚相同，是介于管状和椭圆形之间的一种中间类型，在形态上更接近于管状，在结构上则与短尾部相似；具两个精荚。

长江华溪蟹的精荚非常特殊而且简单，属于一种退化类型。与大部分十足类短尾部的种类不同，后者具多个精荚且大小不等(Hinsch et al., 1974, 1986, 1988; Beninger, 1988)。精荚的多少与卵子的数量密切相关。为保证卵子正常受精，具备一定数量的精荚，对保持精子活力、避免精子流失是非常必要的。长江华溪蟹的卵子直径大，平均 2—3mm，抱卵数通常在 100 粒左右，最多不超过 300 粒，因此无需形成许多精荚。再有，溪蟹所处的环境与辽阔的海洋相比，生活条件变化剧烈。所以，在结构与功能上趋向简单是对生存的一种适应。

3.2 输精管上皮细胞分泌物的化学性质 长江华溪蟹输精管上皮细胞的分泌物，由前向后，嗜酸性逐渐增强，在贮精囊处达到最强。贮精囊上皮细胞分泌物也呈嗜酸性，是否也参加了部分精荚的形成，或者精荚内同样含有精液的成分，这些有待于今后更深入细致的研究。

3.3 输精细管上皮细胞分泌物的组化性质 与 Hinsch 等(1974)(Spider crab, *Libinia emarginata*)研究结果相似，长江华溪蟹输精细管的分泌物至少有二种不同的形式，表现为可被阿利新兰和汞－溴酚兰着色，证明有粘多糖(mucopolysaccharide)和粘蛋白(mucoprotein)的存在，这点正好与细胞内同时具有粗面内质网和高尔基复合体两种胞器的合成作用相吻合。而线粒体相对较少的原因，可能是由于从血淋巴向输精管腔内运送物质并不是细胞的主要活动。但这些与 Uma 等(1979)的报道略有不同。

3.4 粗面内质网和高尔基复合体 粗面内质网和高尔基复合体属于合成活动旺盛的细胞器。在输精管不同区域的上皮细胞中，都富含这二种胞器。大量的含有分泌物的粗面内质网小泡在所有胞质中都有分布。高尔基复合体以及与之相联系的小泡和分泌颗粒在胞质中也多处可见。就分泌物而言，粗面内质网的内容物为匀质的，具有较低或中等致密度，因粗面内质网生成的蛋白质物质较稀，到高尔基复合体内才加工、浓缩成电子致密度较高的物质。而 Hinsch 等(1974)未曾提到这一点。同时，在不同区域的不同胞器结构，可能在合成活动中也有不同的反映。

3.5 精荚壁的层数和厚度 精荚壁的层数和厚度在十足类甲壳动物种间有差异。多数 2—3 层(Uma et al., 1979; Hinsch, 1988; Kooda－cisco et al., 1982; Dudenhausen et al., 1983)；少数一层(Hinsch et al., 1974; Beninger, 1988)。厚薄与保护强弱有

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.

关，与繁殖习性也相适应。长江华溪蟹的精荚壁单层，较薄，呈纤丝状，精荚壁并不完全包被精子群，精荚壁对精子的保护作用偏弱。这与其为纯淡水种、直接发育、交配后马上产卵和精荚在纳精囊内储存时间较短等都有关系。

精荚壁的作用除在运送并储存精子于雌体的过程中具保护作用外，Uma 等(1979)还指出锯缘青蟹(Scylla serrata)精荚壁的外层还具抵御酸碱的作用(Dudenhausen et al.. 1983)。因此，搞清楚精荚壁的结构和化学性质，在阐述或解释精荚在运送、贮藏和裂解过程中的可能机制是十分重要的。

参　考　文　献

堵南山，1988，动物学报，**34**(4)：329—333。

Beninger, P. G., 1988, *J. Crust. Biol.*, **8**(3): 322—332.

Dudenhausen, E. E. and Talbot, P., 1983, *Can. J. Zool.*, **61**: 182—194.

Hinsch, G. W. and Walker, M. H., 1974, *J. Morph.*, **143**: 1—20.

Hinsch, G. W., 1986, *Inter. J. Invert. Reprod. and Develop.*, **10**: 79—87.

Hinsch, G. W., 1988, *J. Crust. Biol.*, **8**(3): 340—345.

Hinsch, G. W. and Mcknight, C. E., 1988, *Inter. J. Invert. Reprod. and Develop.*, **13**: 267—280.

Kooda-cisco, M. J. and Talbot, P., 1982, *J. Morph.*, **172**: 193—207.

Uma, K. and Subramoniam, T., 1979, *Inter. J. Invert. Reprod.*, **1**: 31—40.

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.

ULTRASRUCTURE OF VAS DEFERENS AND FORMATION OF SPERMATOPHORE OF FRESHWATER CRAB, *SINOPOTAMON YANGTSEKIENSE* (CRUSTACEA, DECAPODA)

Wang Lan, Du Nanshan, Lai Wei

(*Department of Biology, East China Normal University, Shanghai* 200062)

Abstract This September 1993 to August 1994 study (by electronmicroscopy, histological, and biochemical methods) on the ultrastructure of the vas deferens and the formation of spermatophoers of the freshwater crab *Sinopotamon yangtsekiense* collected from Anhui Province showed that sperms enter the anterior vas deferens individually and were distributed randomly in a flocculent substance secreted by the cells of the anterior vas deferens. As the epithelium secretion in the anterior vas deferens increased and became thicker, the sperms moving in the anterior vas deferens aggregate in masses that form the cylindrical spermatophores entering into the seminal vesicle finally. The spermatophore consists of sperm mass, spermatophore matrix and the thin single layer, medium electron density spermatophore wall composed of a lot of high density fibrils matrix and flocculent and layered circular vesicles. The single-layer epithelium of the vas deferens is divided into highly columnar, columnar and flat types. The epithelial cells are multinucleate and generally with 1 — 5 nuclei each. These are a few nucleolis in each nucleus. The cytoplasm contains vast arrays of rough endoplasmic reticulum, Golgi complexes and their cisternae or vesicles containing flocculent and granulose material. The anterior vas deferens is the site for spermatophore formation and the seminal vesicle is the storage site of spermatophores.

Key words *Sinopotamon yangtsekiense* Anterior vas deferens Spermatophore

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.

图 版 说 明

图版 I　长江华溪蟹输精细管的组织学、超微结构及精荚的形成(H. E. TEM)

Plate I　Histology, ultrastructure of anterior vas deferens and formation of spermatophore of *Sinopotamon yangtsekiense*

1. 输精细管前段横切，长柱状上皮，多核(H. E)(×640)；2. 输精细管后段横切，柱状上皮(H. E)(×640)；3. 输精细管前段横切，示管腔内絮状分泌物和精子(H. E)(×640)；4. 输精细管近末段横切，分泌物将精子粘合形成精荚(H. E)(×128)；5. 十月精巢横切，示精子发生(H. E)(×256)；6. 输精细管中后部上皮细胞胞质内高尔基复合体及小泡(TEM)(×20 000)；7. 输精细管前部管壁上皮，示粗面内质网及潴泡、线粒体及核糖体(TEM)(×8 000)；8. 精荚壁、分泌泡群和精子(TEM)(×10 000)；9. 分泌泡群放大，示絮状泡、分层圆泡和电子致密物(TEM)(×2 000)；10. 在输精细管管腔内，絮状泡和分层圆泡作用于精子周围，形成精荚基质(TEM)(×6 700)。

BL，基膜；Ci，潴泡；Ep，上皮；ED，电子致密物；FM，絮状物；FS，絮状分泌物；FV，絮状泡；GB，高尔基体；GE，生殖腺上皮；GV，高尔基体囊泡；Lu，管腔；LCV，分层圆泡；M，线粒体；ML，肌肉层；N，核；Ri，核糖体；RER，粗面内质网；S，精子；Se，分泌物；SM，精子群；SVM，分泌泡群；SW，精荚壁；TM，厚膜。

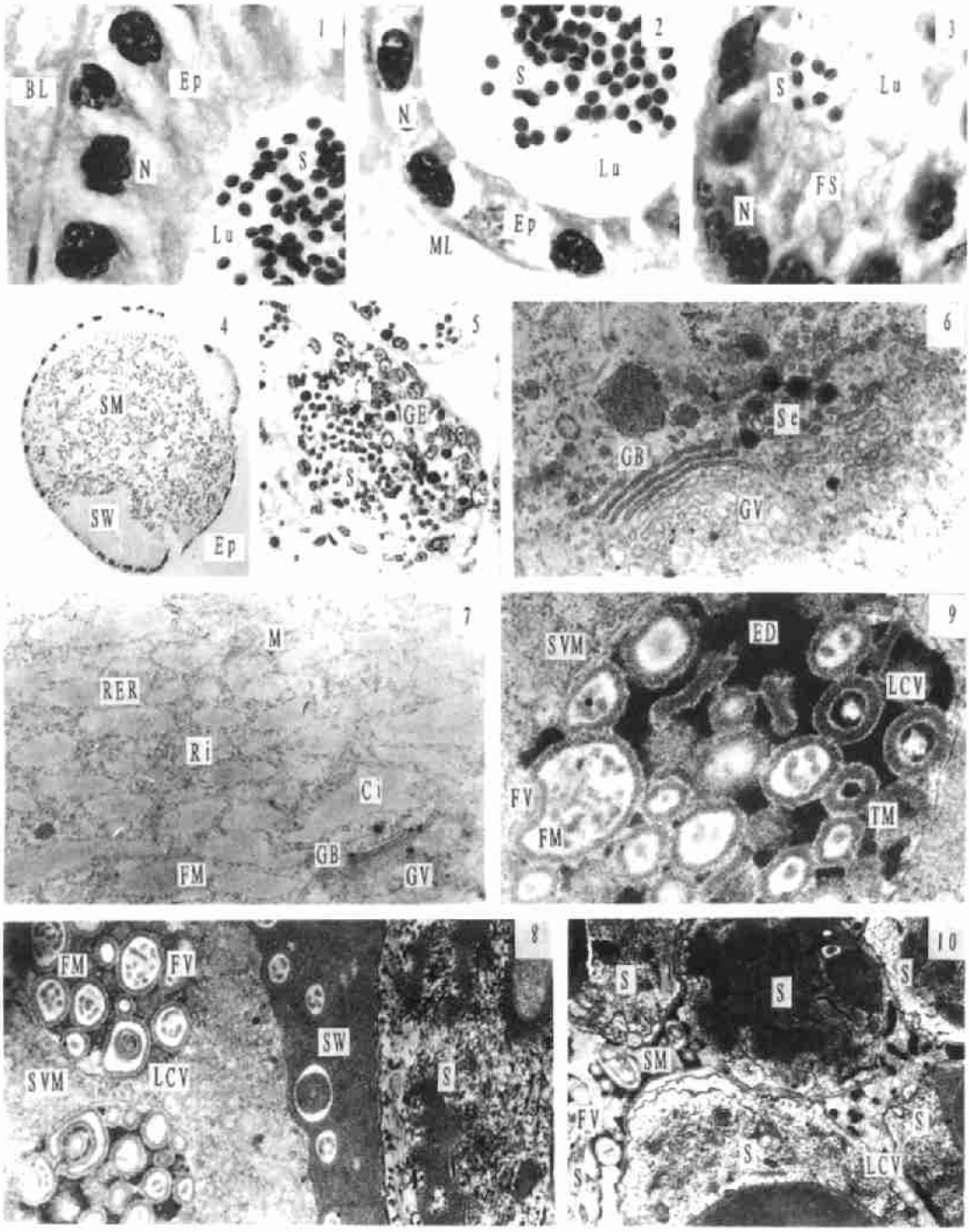
图版 II　长江华溪蟹输精管的超微结构及精荚的形成(TEM)

Plate II　Ultrastructure of vas deferens and formation of spermatophore of *Sinopotamon yangtsekiense*

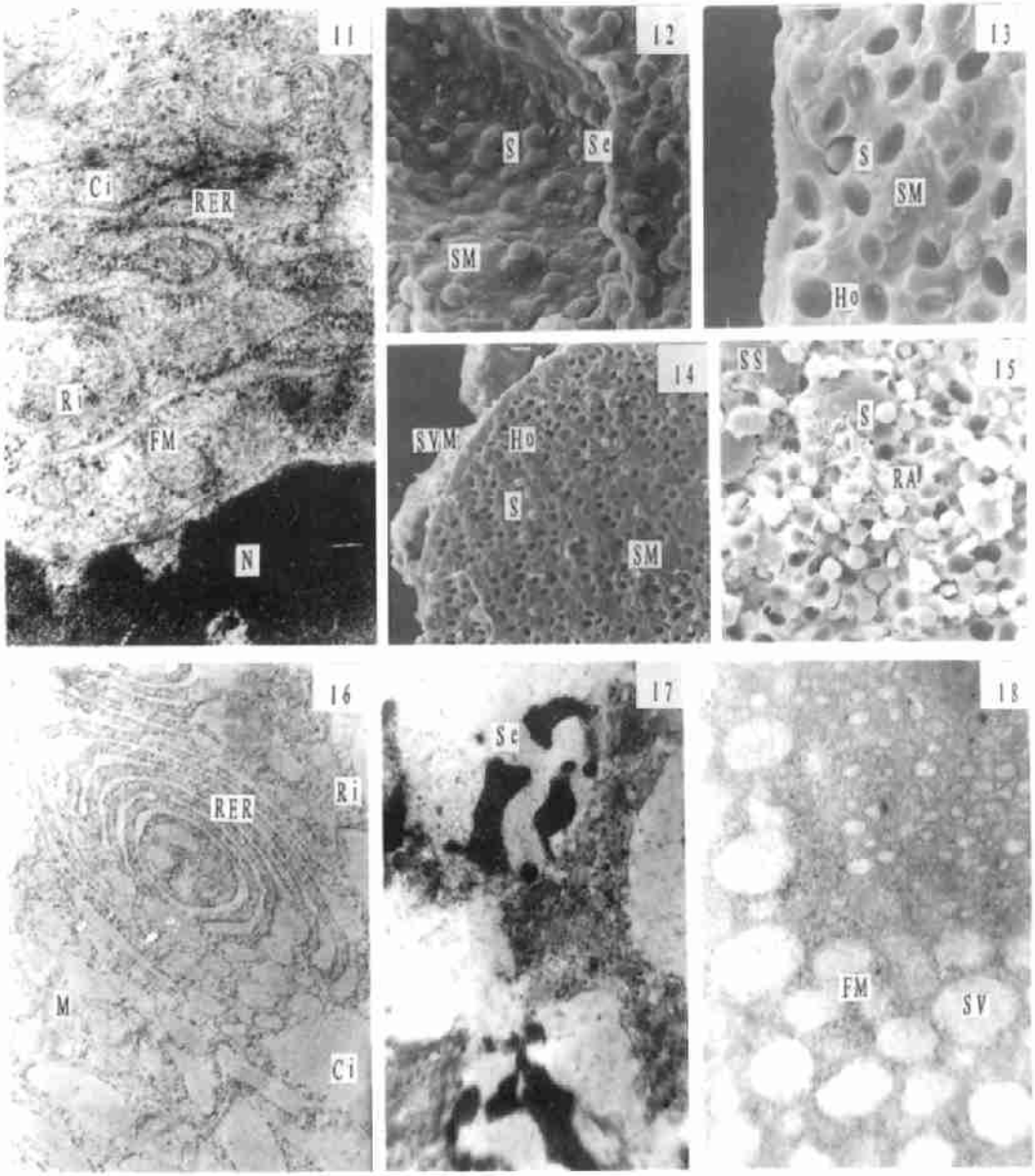
11. 输精细管上皮细胞，示核周围的粗面内质网及潴泡(TEM)(×27 000)；12. 贮精囊经玻璃匀浆器处理，示精子浸于精荚基质中(SEM)(×1 000)；13. 贮精囊横切一部分(SEM)(×2 000)；14. 贮精囊横切四分之一(SEM)(×500)；15. 纳精囊横切(SEM)(×600)；16. 输精细管上皮细胞内环状排列的粗面内质网和线粒体(TEM)(×10 000)；17. 贮精囊上皮分泌物(TEM)(×10 000)；18. 贮精囊上皮膨胀小泡(TEM)(×14 000)。

Ho，凹窝；RA，辐射臂；SM，精荚基质(spermatophore-matrix)；SS，纳精囊分泌物；SV，膨胀小泡；SVW，贮精囊壁。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.



© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.



© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.