

鹰爪虾精子形成的超微结构研究*

吴长功 周岭华 相建海 刘瑞玉

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

提要 于 1997 年 6 月在青岛附近海域采集性成熟的鹰爪虾,采用电子显微镜技术对其精子的形成过程及形态结构特征进行研究。结果表明,鹰爪虾精子细胞产生于精巢的生精小管,在输精管内进一步发育,逐渐形成成熟的精子,许多精子在输精管内聚集成团,外包胶质膜,形成许多精子囊。精子入海水中不运动。鹰爪虾精子后部具有特殊的细胞质区,内含有大量囊泡及膜层体。棘突从体部前端横向伸出,由许多纤丝平行紧密排列组成,外包质膜。从雄虾精子囊中取出的精子与雌虾纳精囊内的精子在形态结构上没有明显差别。

关键词 鹰爪虾,精子形成,精子,顶体

中图分类号 Q954.43

近年来有关对虾类精子的形成及形态结构的研究已有许多报道,许多学者对锐脊单肢虾(Kleve *et al.*, 1980; Clark *et al.*, 1981)、日本对虾(Ogawa *et al.*, 1987)、长额拟对虾(Madina, 1994)、中国对虾(吴长功等, 2001; 林勤武等, 1991)、长毛对虾(洪水根等, 1993, 1999)等几种对虾精子的形成或形态结构进行了研究。结果表明,不同种对虾的精子形成及精子的形态结构不完全相同。鹰爪虾是我国重要的海洋捕捞虾类,在海洋渔业中占有重要的经济地位。但有关鹰爪虾生殖生物学方面的研究的报道却很少,对其精子的形成及形态结构则未见报道。本文对鹰爪虾精子的形成及形态结构的研究结果予以报道。

1 材料与方法

1.1 材料

于 1997 年 6 月在青岛附近海域采得性成熟的鹰爪虾(*Trachypenaeus curvirostris*),将活虾运回中国科学院海洋研究所水族楼暂养 2—3d,分别解剖取出雄虾的精巢、输精管、贮精囊及交配雌虾纳精囊备用。

1.2 样品制备

1.2.1 透射电镜(TEM)样品制备 将精巢及输精管以 2.5% 的冷戊二醛(消毒海水配制)预固定 30min,而后用双面刀片切碎,以吸管冲洗均匀,静置 3min,取上层含精子囊的固定液,静置 20min,待精子囊沉入底部,再换新的 2.5% 的冷戊二醛固定 1h,然后用 0.2mol/L (pH= 7.2) 磷酸缓冲液冲洗 3 次,以 1% 锇酸后固定 1h,酒精系列脱水, Epon812 包埋,超薄切片,醋酸铀和柠檬酸铅双染色, HITACHI- H500 透射电镜观察。

* 国家自然科学基金资助项目,39900016 号。吴长功,男,出生于 1968 年 11 月,博士, E-mail: xbyc@ms.qdio.ac.cn

收稿日期: 2000-05-07, 收修改稿日期: 2000-09-03

1.2.2 扫描电镜(SEM)样品制备 用玻璃匀浆器将 2.5% 的冷戊二醛固定好的精子囊破碎,制成精子悬液,离心法收集精子,磷酸缓冲液冲洗 3 次,丙酮系列脱水醋酸异戊二酯冲洗两次,涂片后经 CO₂ 临界点干燥、喷金, KYKY-1000B 扫描电镜观察。

2 结果

鹰爪虾精母细胞在精巢内产生,经过减数分裂形成精子细胞,精子细胞在输精管内进一步成熟,排出多余的细胞质,形成顶体及棘突,并逐渐聚集成团,外包胶质膜,形成大小不一的精子囊(sperm sac)。鹰爪虾雄虾精子囊内的精子与雌虾纳精囊内贮存的精子在表面形态及内部结构上没有明显的区别。鹰爪虾成熟的精子体部长约 3 μ m,中间呈圆柱型,为核区,由核区向后逐渐变细,末端略尖,为细胞质区。体部前部为帽状体,自帽状体横向伸出一刺状棘突,棘突长约 2 μ m,与精子体轴接近垂直(图 2:1、2)。

2.1 精子的形成

鹰爪虾精子细胞形态不规则,细胞质内已有致密颗粒聚集,细胞核内有团块状的染色质,为精子细胞的标志(图 1:1)。精巢壁细胞代谢活跃,内有大量的线粒体和内质网(图 1:2)。精母细胞在精巢内即完成减数分裂,在精巢小管中已有开始分化的精子细胞,此时的精子棘突尚未形成,但细胞质已明显减少,质膜与核膜之间为一层极薄的细胞质带,在细胞的一端胞质聚集较多,内有一些膜结构的颗粒,可能是退化的线粒体。与之相对应的细胞另一端的胞质内出现电子致密物聚集,顶体开始形成,染色质均质化,内有极少量致密颗粒,膜核为双层,内层不连续(图 1:3)。

输精管内的精子细胞进一步发生形态结构的变化,形成成熟的精子。整个过程主要包括棘突的形成、细胞质的分化、膜层体和囊泡的形成、核及核膜的变化等。

鹰爪虾顶体结构比较简单,因此形成过程也相对比较简单,只有顶体颗粒的聚集及棘突的形成,未发现具有亚顶体区或类似结构。细胞质的分化主要是围核细胞质带的进一步变薄,后端细胞质区内膜层体及囊泡的形成。细胞质区是胞质较为集中的部位,其向前延伸形成围绕核外的胞质带,细胞质带内含物电子密度比较低。细胞质区主要是囊泡和膜层体,随着精子的成熟,囊泡的空泡化越来越明显,相对小的囊泡逐渐融合成大的囊泡,内含物也逐渐减少,而膜层体则越来越多(图 1:4、5)。

精子形成过程中,核的变化主要是染色质和核膜的变化。精子形成早期核内具有大的异染色质区,核膜是连续的(图 1:1)。随着精子的发育,染色质逐渐解凝形成细小颗粒状的核质,核内常具有电子密度较大的颗粒,核膜也逐渐由连续的双层膜变为内膜不连续,外膜仍保持完整(图 1:6)。成熟精子的核膜几乎消失,只在顶体的后部,有一些已残存的核膜(图 2:2)。

2.2 成熟精子的形态及超微结构

2.2.1 精子核区 精核为非浓缩型,核质均匀分布呈网状,内有大小不等的致密颗粒,核外有明显的核膜,为双层,内膜不连续,比细胞质膜略薄,厚约 0.01 μ m。核外包绕一层细胞质带,厚约 0.05 μ m,为细胞质区的延伸,外面包有细胞膜。细胞质带为均匀的、电子密度较低的带状结构,同细胞质区的结构及内含物不同(图 2:2)。

2.2.2 细胞质区 鹰爪虾细胞质内含物比较丰富,且集中在精子后端,细胞质向前端延伸包绕精核,向后变尖,使精子整体呈锥型。细胞质区内具有发达的囊泡及膜层体,囊

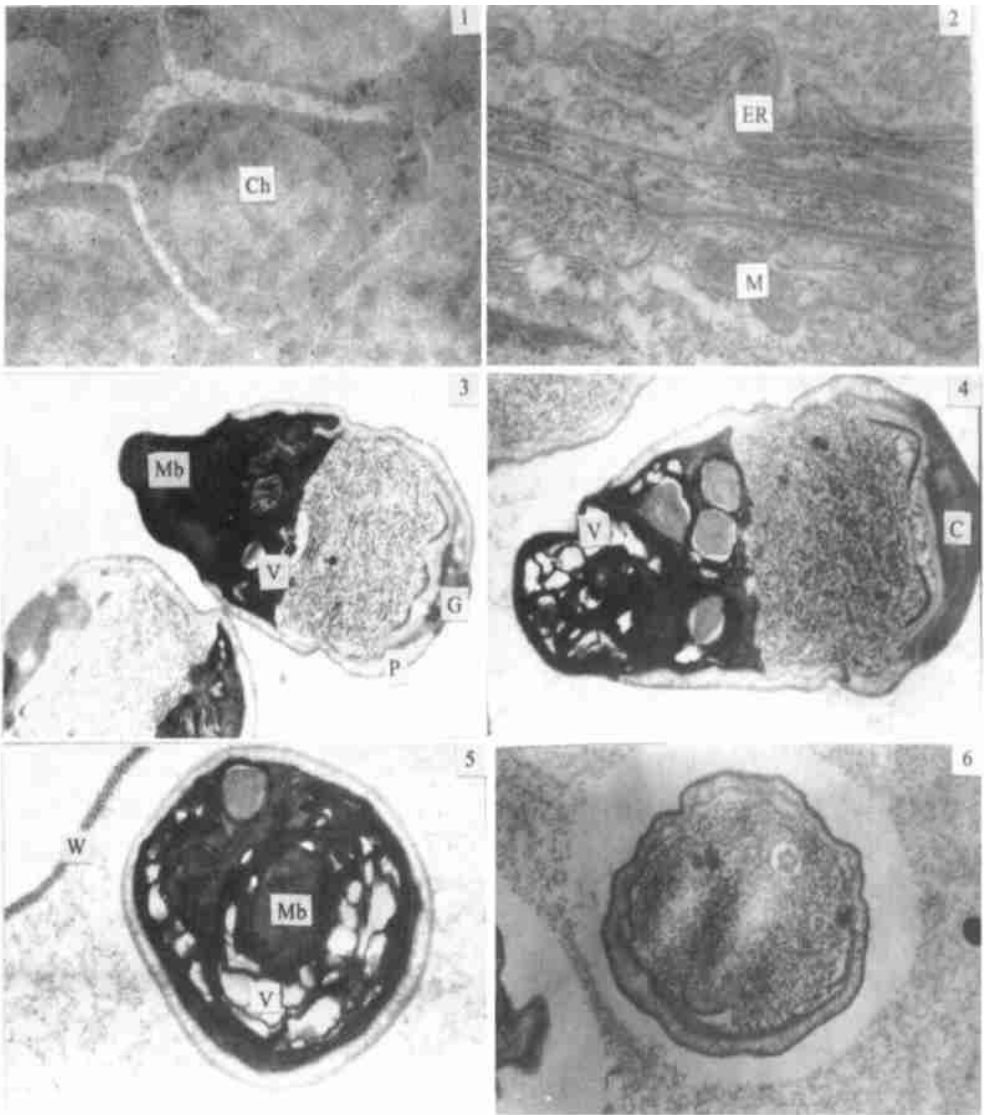


图1 鹰爪虾精子的形成过程

Fig. 1 Spemiogenesis in *Trachypenaeus curvirostris*

1. 早期尚未分化的精子细胞, 核内有团块状的染色质(Ch), $\times 12\ 000$; 2. 精巢壁的透射电镜切片, 示内质网(ER)和线粒体(M), $\times 18\ 000$; 3. 已经分化的精子细胞, 示细胞质区的囊泡(V)和膜层体(Mb), 细胞质带(P), 开始形成的顶体颗粒(G), $\times 12\ 000$; 4. 细胞质区开始明显的空泡化, 帽状体(C)开始形成, $\times 15\ 000$; 5. 细胞质区的横切, 示囊泡(V)、膜层体(Mb)、精子囊(W)及囊内基质, $\times 18\ 000$; 6. 核区横切, $\times 15\ 000$

泡大小不等, 直径为 100—500nm。囊泡有两种, 一种囊泡内含物电子密度较高, 有类似膜的结构, 可能是退化线粒体; 另一种囊泡内含物极少, 膜内为电子密度很低的物质, 呈空泡状或絮状。膜层体中有大量的单位膜紧密聚集排列而成, 通常围绕于囊泡的周围。细胞质区与核之间核膜不连续, 可直接相通(图 2: 2、5)。

2.2.3 帽状体及棘突 帽状体及棘突位于鹰爪虾精子前端, 帽状体电子密度较深, 呈

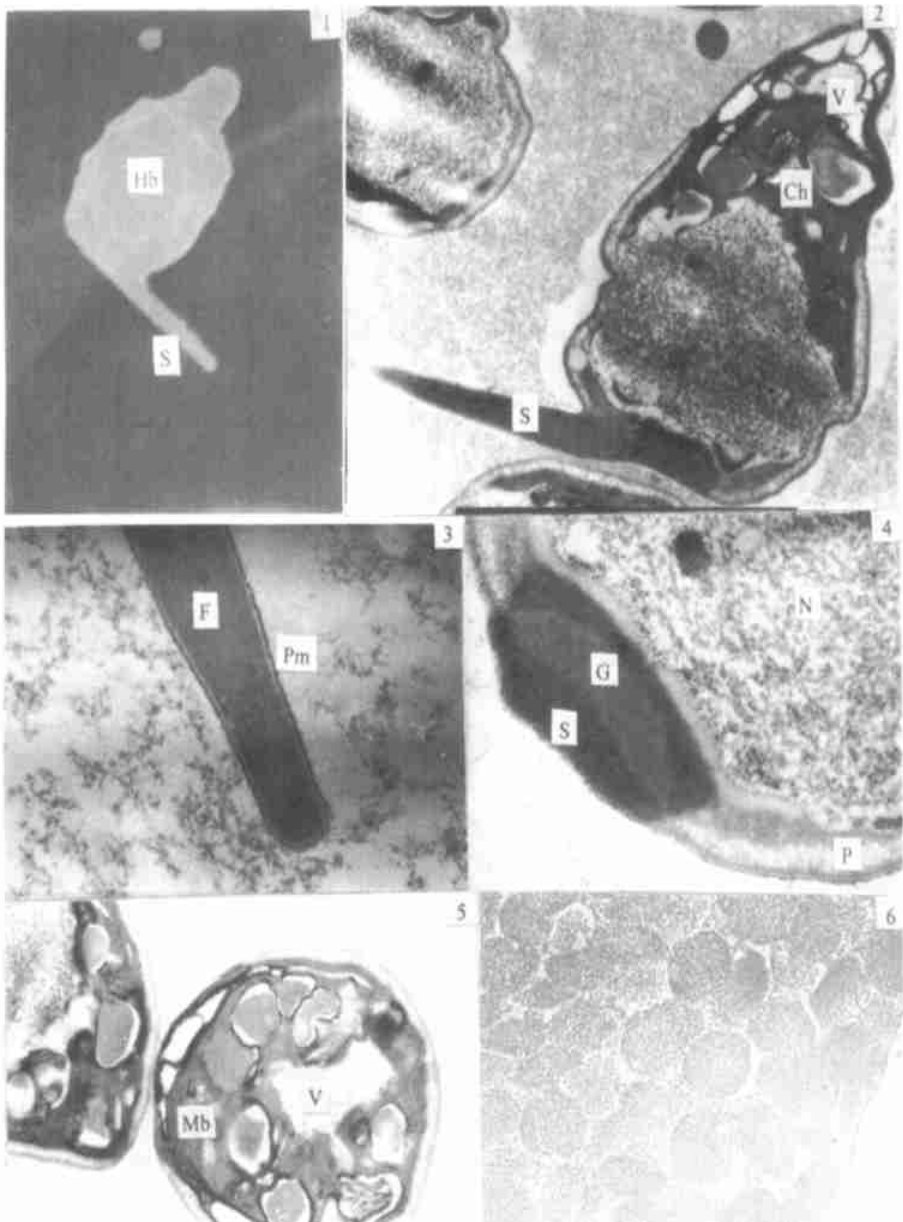


图2 鹰爪虾成熟精子的形态结构及精子囊

Fig. 2 Morphology and structure of matured sperm and sperm sac in *Trachypenaeus curirostris*

1. 成熟精子的扫描电镜图像, 示棘突(S)、后主体部(Hb), $\times 7\ 500$; 2. 成熟精子的透射电镜图像, 示棘突(s)、退化的线粒体(Ch)、囊泡(V), $\times 18\ 000$; 3. 棘突前端纵切, 示纤丝(F)及质膜(Pm), $\times 60\ 000$; 4. 成熟精子帽状体透射电镜图像, 示细胞核(N)、顶体颗粒(G)、棘突基部(S)、胞质带(P), $\times 48\ 000$; 5. 精子细胞质区的结构, 示空泡化的囊泡(P)、膜层体(Mb), $\times 15\ 000$; 6. 远端输精管半薄切片, 示精子囊, $\times 100$

盘状覆盖于精子前端, 并由此斜向伸出一刺状棘突。透射电镜显示棘突由极细的纤丝组成, 外包质膜, 长约 $2\ \mu\text{m}$ (图 2: 2, 3)。鹰爪虾帽状体比较简单, 没有明显的顶体及亚顶体区之分, 与细胞核之间有不连续的核膜, 但帽状体电子密度较大, 顶体颗粒中间电子密度

相对较小, 与其他部位有明显的界限(图 2: 4)。

2.3 精子囊的形态结构

许多精子在输精管中段即开始聚集成团, 其外逐渐包绕非细胞结构的膜, 形成精子囊。鹰爪虾的精子囊在输精管中段已经形成, 在精子未完全形成之前, 精子囊的壁已经形成, 精子的最后成熟是在精子囊内完成的。每一个精子囊内都贮存有大量的精子。精子囊为圆球型, 大小不一, 直径在 50—100 μm 不等。精子囊与通常报道的精英的不同之处在于, 精子囊结构简单, 其内仅有精子及均质絮状的基质(图 2: 6)。一般对虾的精英由豆状体和瓣状体组成, 结构比较复杂。

3 讨论

研究表明, 鹰爪虾精子在精巢内形成并初步发育, 在输精管内进一步成熟。大量的精子聚集在一起, 外包一非细胞结构的胶体膜, 形成精子囊, 囊内充满电子密度较低的基质。鹰爪虾成熟精子结构特别, 与已报道的其他任何对虾类的精子都不相同。

在有关对虾精子形成的研究中, 许多报道都认为对虾的精子在输精管内形成过程中逐渐聚集成团, 最后贮存在精英中, 精英在雄虾的壶腹中形成, 一次一般只形成两个精英, 结构较复杂, 直径比较大(Malek *et al.*, 1974a, b; Champion, 1987; Ro *et al.*, 1990; Bauer *et al.*, 1991; Chow *et al.*, 1991)。而对鹰爪虾的研究却发现, 鹰爪虾的精子先贮存在许多大大小小的精子囊中, 精子囊在雄虾的输精管内形成, 为一个非细胞结构的胶体状囊, 囊壁很薄, 囊内充满基质, 基质中有许多处于相同发育时期的精子。有关鹰爪虾的交配过程中精子囊及胶体物质如何进入纳精囊, 还有待作深入的研究。

在精子的形态结构方面, 鹰爪虾也与已报道的一些对虾的精子有所不同, 根据目前的报道对虾类的精子多为图钉状或洗耳球状, 前端为一向前直向伸出的棘突, 后主体部主要为细胞核的部分, 细胞质较少, 为近圆球型(Kleve *et al.*, 1980; Shiggekawa *et al.*, 1986; Oga-wa *et al.*, 1987; Medina, 1994; 林勤武等, 1991; 洪水根等, 1993)。而鹰爪虾的精子棘突总是横向伸出, 与主体部长轴接近垂直, 且帽状体较小。主体部明显分为核区及细胞质区。核区内主要是浓缩的细胞核, 外包一薄层的细胞质。细胞质区有大量的囊泡、膜层体及电子密度极高的物质。细胞质区比核区略细长, 末端尖细, 与其他种类对虾的精子形成鲜明的对比。鹰爪虾精子形态结构与已报道的近缘鹰爪虾(*Trachypenaes similis*) 精子的形态相似(Bauer *et al.*, 1993), 而与对虾科其他属的对虾精子不同, 鹰爪虾属精子在形态结构上的特异性在对虾进化和分类中的地位及意义有待进一步的研究。

参 考 文 献

- 吴长功, 周岭华, 相建海等, 2001. 中国对虾输精管结构及精子形成. 海洋与湖沼, 32(1): 23—30
- 林勤武, 刘瑞玉, 相建海, 1991. 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. 海洋与湖沼, 22(5): 397—401
- 洪水根, 陈细发, 周时强等, 1993. 长毛对虾精子发生的研究 I. 精子的形态结构. 动物学报, 39(3): 239—241
- 洪水根, 夏传武, 吴文杰等, 1999. 长毛对虾精子的发生过程. 海洋与湖沼, 30(4): 368—373
- Bauer R T, Cash C E, 1991. Spermaphore structure and anatomy of the ejaculatory duct in *Penaeus setiferus*, *P. duorarum*, *P. aztecus* (Crustacea: Decapoda): homologies and functional significance. *Tran Am Microsc Soc*, 110: 144—162
- Bauer R T, Lin Jun Min, 1993. Spermaphores and plug substance of the marine shrimp *Trachypenaes similis* (Crustacea: Decapoda)

- da: Penaeidae): formation in the male reproductive tract and disposition in the inseminated female. *Biol Bull*, 185: 174—185
- Champion H F B, 1987. The functional anatomy of the male reproductive system in *Penaeus indicus*. *South African J Zool*, 22: 297—307
- Chow S, Sandifer P A, Dougherty M M *et al*, 1991. Spermatophore formation in penaeid shrimps. *J Crustacean Biol*, 11: 201—216
- Clark W H Jr, Maurice G, Kleve H G *et al*, 1981. An acrosome reaction in natantian sperm. *J Exp Zool*, 218: 279—291
- King J E, 1948. A Study of the reproductive organs of the common marine shrimp, *Penaeus setiferus* (Linnaeus). *Biol Bull*, 94: 244—262
- Kleve M G, Yudin A I, Clark W H Jr, 1980. Fine structure of the unistellate sperm of the shrimp *Sicyonia ingentis* (Natantia). *Tissue and Cell*, 121: 29—45
- Madina A, 1994. Spermiogenesis and sperm structure in the shrimp *Parapenaeus longirostris* (Crustacea: Dendrobranchiata): comparative aspects among decapods. *Mar Biol*, 119: 449—460
- Malek S R A, Bawab F M, 1974a. The formation of the spermatophore in *Penaeus trisulcatus* (Forsk., 1775) (Decapoda, Penaeidae), I. The initial formation of a sperm mass. *Crustaceana*, 26: 273—285
- Malek S R A, Bawab F M, 1974b. The formation of the spermatophore in *Penaeus trisulcatus* (Forsk., 1775) (Decapoda, Penaeidae), II. The deposition of the main layers of the body and of the wing. *Crustaceana*, 27: 73—83
- Ogawa Y, Kakuda S, 1987. Scanning electron microscopic observations on the spermatozoa of the prawn *Penaeus japonicus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 53: 975—977
- Perez Ferfante I, 1975. Spermatophores and thelyca of the American white shrimp, genus *Penaeus*, subgenus *Litopenaeus*. *Fish Bull*, 73: 463—486
- Ro S, Talbot P, Leung-Trujillo *et al*, 1990. Structure and function of the vas deferens in the shrimp *Penaeus setiferus*. *Segment* 1—3. *J Crustacean Biol*, 10(3): 455—468
- Shigekawa K, Clark W H Jr, 1986. Spermiogenesis in the marine shrimp, *Sicyonia ingentis*. *Development Growth and Differentiation*, 28(2): 95—112

THE ULTRASTRUCTURE OF *TRACHYPENAEUS* *CURVIROSTRIS* SPERMIOGENESIS

WU Chang-Gong, ZHOU Ling-Hua, XIANG Jian-Hai, LIU Rui-Yu (J. Y. Liu)
(*Institute of Oceanology, The Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071*)

Abstract *Trachypenaeus curvirostris* was captured in the seawater near Qingdao in June 1997. Spermiogenesis, sperm morphology of *T. curvirostris* were studied by using electronic microscope. Results indicate that the sperm cells are produced in testis and developed into mature sperms in vas deferens. Its developmental process includes formation of spike, differentiation of cytoplasm, formation of vesicles and membrane bodies and changes of nuclear and membrane. Sperms assembled together to form sperm sacs surrounded by jelly coats. The sperms are non-motile in seawater. Morphologically, sperm consists of spike and main body, and its internal ultrastructure includes spike, cap, nuclear in center and cytoplasm at the rear end. Protuding slantly from the front, spike is composed of many parallel protein fibrils, and surrounded by membrane. With simple structure, cap is composed of high-density electronic materials. Cytoplasm area has many vesicles and membrane bodies. No obvious morphological difference is observed between sperms from male sperm sac and those from female thelycum. The morphology of *T. curvirostris* sperm is special, different from that of other related shrimp sperms.

Key words *Trachypenaeus curvirostris*, Spermiogenesis, Sperm, Acrosome