## 皱纹盘鲍(Haliotis discus hannai) 精子的超微结构<sup>·</sup>

包振民 胡景杰

姜 明 刘晓云

(青岛海洋大学海洋生命学院,青岛,266003)

(青岛海洋大学测试中心,青岛,266003)

摘要 皱纹盘鲍(Haliotis discus hannai)的精子属于"原始型",由顶体(2.2µm×1.0µm)、细胞核 (3.1µm×0.83µm)、中段(0.74µm×1.4µm)和鞭毛(52µm×0.22µm)组成。顶体弹头状,由两部分 组成:(1)顶体的前端是一呈卵形的高电子密度的部分;(2)顶体的后端为一呈翼状的低电子密度 的部分。细胞核呈长柱状。在顶体凹陷和细胞核凹陷之间为顶体下腔,内有微丝束结构。中段包括 5或6个线粒体,一对中心粒及一些泡状结构。鞭毛为典型的"9+2"结构。

关键词 皱纹盘鲍;精子;超微结构

中图法分类号 S969.3;Q-336

根据形态学比较,软体动物的精子可分为两类:"原始型"和"特化型"。直接产卵于水体中, 进行体外受精的种类,例如,瓣鳃纲、掘足纲的精子为"原始型"<sup>[1]</sup>。而头足纲、腹足纲中的肺螺 类和后鳃类的精子为"特化型"<sup>[2]</sup>。鲍为重要的经济种类。近几年,人工养殖业蓬勃发展,有关鲍 养殖方面的文献专著较多,但受精生物学方面的报道较少。鲍在繁殖时,直接产卵于水中,行体 外受精,在海水中发育成幼虫,经变态、附着形成稚鲍。本文报道了皱纹盘鲍成熟精子的超微结 构,以期对皱纹盘鲍的受精生物学研究提供参考。

1 材料和方法

1.1 **材料** 皱纹盘鲍亲鲍取自蓬莱大季家鲍养殖场,经阴于刺激后放入紫外线照射过的海水,诱导精子排放。

1.2 方法 精子悬液与4%戊二醛等量混匀,低速离心(200g,4℃)5min,弃去沉淀,上清液 再离心(1500g,4℃)10min,弃去上清液,沉淀包埋于2%琼脂中,1%锇酸后固定,梯度酒精脱 水,Epon812 渗透包埋,LKB-Nova 超薄切片机切片,切片厚度500~600Å,铀铅双重染色,日 立 H--7000 透射电镜观察、拍照。

国家"攀登计划 B"PD B6-3-1 资助项目 收稿日期:1997-03-14;修订日期:1998-01-11 包振民,男,1912 年 12 月出生,博士,教授。



## 图版说明 Plate illustration

图 1 精子纵切。示顶体(A),细胞核(N),中段(MP),鞭毛(F),顶体凹陷(AF),细胞核凹陷(NF),染色质空缺(L),小泡(V)。×12.6K

Fig. 1 Sagittal section of the sperm showing acrosome (A), nucleus (N), midpiece (MP), flagellum (F), acrosomal fossa (AF), nuclear fossa (NF), lacunae (L), vesicles (V).  $\times 12.6$ K

图 2 精子顶体部分近纵切。高电子密度部分(ED)被低电子密度部分(LD)包围。×25.2K

Fig. 2 Parasagittal section of the acrosome showing an electron-dense sphere (ED) surrounded by less dense homogeneous material (LD).  $\times 25.2$ K

图 3 精子顶体部分纵切。示顶体凹陷(AF),细胞核凹陷(NF),微丝束(MF)。×30K

Fig. 3 Sagittal section of the acrosome showing acrosomal fossa (AF), nuclear fossa (NF) and microfilamentous bundle (MF).  $\times$  30K

图 4 精子顶体部分横切。示高电子密度部分(ED)。×51K

Fig. 4 Cross section through acrosome showing eletron-dense material (ED). ×51K

图 5 精子顶体部分横切。示低电子密度部分(LD)。×51K

Fig. 5 Cross section through acrosome showing less dense material (ED).  $\times$  51K

图 6 精子细胞核的纵切和横切。示细胞核凹陷(NF)和染色质空缺(L)。纵切×15K 横切×32.8K

Fig. 6 Sagittal and cross sections through nucleus showing nuclear fossa (NF) and lacunae (L). Sagittal section  $\times$  15K, Cross section  $\times$  32. 8K

图 7 精子中段纵切。示中心粒凹陷(F),近端中心粒(PC),远端中心粒(DC),线粒体(M)和小泡(V)。×30K Fig. 7 Sagittal section through the midpiece showing the centriolar fossa (F), proximal centriole (PC), distal centriole (DC), mitochondria (M) and vesícle (V).×30K

图 8 精子中段横切。示 5 个线粒体(M)围绕中心粒(DC)。×30K

Fig. 8 Cross section of the midpiece (MP) showing distal centricle (DC) surrounded by five mitochondria (M).  $\times 30$ K

图 9 精子中段横切。示 6 个线粒体围绕中心粒。×30K

Fig. 9 Cross section of the midpiece (MP) showing distal centricle (DC) surrounded by six mitochondria (M).  $\times 30K$ 

图 10 精子中段横切。示线粒体与远端中心粒相联。×30K

Fig. 10 Cross section of the midpiece showing mitochondria attached to the distal centriole (DC). ×30K

图 11 鞭毛横切。示"9+2"结构和囊管(V,)。×60K

Fig. 11 Cross section of a flagellum showing the 9+2 arrangement of microtubules and vesicular tube (Vt).  $\times 60K$ 

图 12 鞭毛末段横切。示"9+2"结构。×30K

Fig. 12 Cross section of a flagellum end piece showing the 9+2 arrangement of microtubules. × 30K

2 结果

通过电镜观察和根据观察绘的精子超微结构示意图可见,精子全长 58μm,可分为顶体、 细胞核、中段和鞭毛几部分(图 1,13):

2.1 顶体 由细胞膜包裹,大小为2.2μm×1.0μm 在其后有一个凹陷为顶体下腔(AF),长 0.67μm(图2,3)。顶体呈弹头状,明显地由两个部分构成:a.高电子密度的部分(ED),该结构 位于顶体前方中轴位置上,向后连接AF(图2,3,4)。b.均质、低电子密度物质(LD),充满顶体 的其它部位(图2,5)。没有观察到二者之间有膜相结构。另外,顶体前端的细胞膜有泡化趋势 (图2)。

2.2 细胞核 细胞核呈长柱状,大小为 3.1μm×0.83μm,其前方形成的核凹陷为顶体下腔 (NF),NF 长0.72μm。在细胞核内可观察到染色质空缺(L)的部位(图 6)。在暗视野显微镜下, 观察活的精子,也可见到这些结构,由此说明它们是正常结构。在顶体凹陷和核凹陷之间有微 丝束(MF)结构(图 1,2),微丝束在核凹陷的底部,与核膜相连。据报道,该结构由肌动蛋白构 成,与顶体反应有关<sup>[3]</sup>。

2.3 **中段** 中段大小为 0.74μm×1.4μm,由 5 个或 6 个线粒体(M)、一对中心粒(PC,DC) 和一些泡状(V)结构组成(图7)。5 个或 6 个线粒体围绕中心粒作玫瑰花状排列(图8,9),有锚 状(AN)结构连接二者(图10)。近端中心粒(PC)与精子的长轴垂直,远端中心粒(DC)与精子 的长轴平行,并形成鞭毛的附着点(图7)。

2.4 鞭毛 鞭毛大小 52μm×0.22μm 为典型的"9+2"结构,其外为质膜。线粒体和远端中心

粒之后的一段,在轴丝一侧有泡状结构(Vt)存在(图11)。 鞭毛由前向后逐渐变细,末段仅由轴丝和质膜构成(图 11,12)。

3 讨论

(1)腹足纲前鳃亚纲的精子既有"原始型",又有"特 化型",行体外受精多为"原始型",行体内受精多为"特化 型"<sup>[1,2]</sup>。皱纹盘鲍属于原始腹足目,精卵结合于水中。从其 结构看,精子为"原始型",但与典型结构略有不同,其精子 较长,头部较大,精子头部由一个非常大呈弹头状的顶体 和一个长柱状的细胞核组成,类似一个二级火箭(图1, 13)。顶体与细胞核的体积比为1 1,而红鲍、绿鲍的比例 分别为1 1.4和1 1.2<sup>[3,4]</sup>。其它无脊椎动物和脊椎动 物匀未发现如此大的顶体<sup>[5]</sup>。皱纹盘鲍的顶体为倒"U"字 型,与Baccetti提出的软体动物精子顶体的基本结构是相 似的<sup>[6]</sup>。精子尾部由中段和鞭毛组成,鞭毛由前向后逐渐 变细,囊管在轴丝的一侧,轴丝的走向不在中央,而是偏向 一侧,说明皱纹盘鲍精子鞭毛的结构不是辐射对称,林光 华等在草鱼的精子中也观察到相似的结构<sup>[7]</sup>。

(2) 皱纹盘鲍的精子顶体由电子密度不同的两个部 分组成,这种结构在其它软体动物中也有发现。Summer 和 Hylander 在研究瓣鳃纲软体动物时发现,高电子密度 组分与精-卵结合有关,低电子密度物质在顶体反应中放 出,包围顶体丝,调节顶体丝与质膜的反应<sup>[8]</sup>。另外,根据 本文观察,卵子的卵水能明显提高精子的活动能力,产生 精子向卵表面的定向游动,顶体反应发生于卵黄膜上,顶 体内容物可溶解卵黄膜。

(3) 在皱纹盘鲍精子纵切面上,顶体凹陷和细胞核凹 陷形成的顶体下腔内有一"微丝束"的构造。Baccetti 把软



图 13 皱纹盘鲍精子超微结构 示意图。示顶体(A),细胞核(N), 中段(MP),鞭毛(F),顶体凹陷(AF), 细胞核凹陷(NF),染色质空缺(L), 线粒体(M),小泡(V)。

Fig. 13 Diagrammatic representation of the ultrastructural features of the sperm of the *Haliotis discus hannai* showing acrosome (A), nucleus (N), midpiece (MP), flagellum (F), acrosomal fossa (AF), nuclear fossa (NF),lacunae (L), mitochondrion(M), vesicel(V).

体动物精子的微丝称为微丝肌动蛋白,他认为微丝肌动蛋白将在顶体反应中形成顶体丝<sup>[6]</sup>。但 皱纹盘鲍精子的顶体丝要比微丝束长得多。因此,顶体丝的形成可能由肌动蛋白聚合而成,这 与一些棘皮动物很相似<sup>[9]</sup>。

(4) 电镜观察在细胞核内可观察到染色质空缺的部位。在暗视野显微镜下,观察活的精子,也可见到这些结构。Lewis 在研究红鲍的精子时也观察到相同的结构,并认为它们是正常 结构<sup>[3]</sup>。

## 参考文献

- 1 Baccetti B. Comparative spermatology. New York: Academic press, 1970. 29~46
- 2 Metz C B and Monroy A. Biology of fertilization. New York: Academic press, 1985. 299~345
- 3 Lewis C A, Leighton D L and Vacquier V D. Morphology of abalone spermatozoa before and after the acrosome reaction. J Ultrastruct Res, 1980, 72:39~47
- 4 Lewis C A, Talbot C F and Vacquier V D. A protein from abalone sperm dissolves the egg vitelline layer by a nonenzymatic mechanism. Dev Biol, 1982, 92;227~240
- 5 Foltz K R and Lennarz W J. Review the molecular basis of sea urchin gamete interaction at the egg plasma membrane. Dev biol, 1993, 158:46~61
- 6 Fawcett D W and Bedford J M. The spermatozoon. Baltimore Urban+Schwarzenberg, 1979, 305~329
- 7 丁汉波,等.发育生物学.北京:高等教育出版社,1987.39~63
- 8 Summers R and Hylander B L. Primary gamete binding: the species exclusive events of echinoid fertilization. Exp cell res, 1976,100:190~194
- 9 Tilney L G, Hatano S, Ishikawa H, et al. The polymerization of action: its role in the generation of the acrosomal process of certain echinoderm sperm. J cell biol, 1973,59:109~126

## Ultrstructure of the Spermatozoa of the Abalone (*Haliotis discus hannai*)

Bao Zhenmin Hu Jingjie

(College of Marine Life Science, Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003)

Jiang Ming Liu Xiaoyun

(Test Centre, Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003)

Abstract The sperm of the ablone, *Haliotis discus hannai*, consists of a bullet-shaped acrosome  $(2.2\mu m \times 1.0\mu m)$ , a nucleus  $(3.1\mu \times 0.83\mu m)$ , a midpiece  $(0.74\mu m \times 1.4\mu m)$  and a flagellum  $(52\mu m \times 0.22\mu)$ . The large acrosome contains two distinct components: 1) an ovoid eletron-dense body in the anterior apex of the acrosome; 2) a less dense, homogeneous material at the acrosome posterior. A bundle of microfilaments protrude from the nuclear fossa into the acrosomal fossa. The midpiece consists of 5 or 6 mitochondria, a pair of centriole and several vesicles. The sperm is of the "primitive" type. Key words *Haliotis discus hannai*; spermatozoa; ultrastructure