

# 日本沼虾精子的形态和超微结构研究

席贻龙 谈奇坤

(安徽师范大学生物系, 芜湖 241000)

## 提 要

应用电子显微镜技术结合细胞化学方法对日本沼虾精子进行了形态和超微结构研究。结果显示, 日本沼虾精子形似外翻的伞状。无鞭毛、不运动的精子主要由前端棘突、中间帽状体和后主体部组成。精子的核属非浓缩型, 内布许多絮状物质, 外无核膜包被, 呈 Feulgen 阳性反应, 位于后主体部内; 中间帽状体的细胞质内含有一对中心粒和 15—20 根放射状排列的纤丝, 纤丝在帽状体凸面中央汇聚并延伸成精子的棘突。棘突和放射状纤丝皆具间隔约 35 nm 的环纹以及与之相垂直的、直径约 4—7 nm 的丝状体。精子无明显的顶体区域。

**关键词** 日本沼虾, 精子, 超微结构

十足目甲壳动物无鞭毛、不运动精子可分成二类: 爬行亚目的多棘型 (multistellate) 精子和游泳亚目的单棘型 (unistellate) 精子<sup>[1]</sup>。有关爬行亚目的多棘型精子和游泳亚目对虾派的单棘型精子的超微结构研究, 国外已有较多报道, 国内近年来也有一些报道<sup>[2-4]</sup>。但对游泳亚目真虾派的单棘型精子, 国外迄今仅有较少研究<sup>[5-8]</sup>, 国内尚未见这方面的研究报道。

作者研究了真虾派的日本沼虾单棘型精子的形态和超微结构。

## 1 材料和方法

性成熟的雄性日本沼虾 [*Macrobrachium nipponense* de Haan] 于六月中旬取自芜湖市农贸市场, 实验室内暂养几日后通过解剖取得其精荚, 用玻璃匀浆器裂解, 得精子悬液备用。

**扫描电镜:** 将精子悬液用 2.5% 戊二醛固定 3h 后, 取一小滴滴于载有 Formal 膜的小盖玻片上, 静置 10min 后, 0.1mol/L (pH7.2) 磷酸缓冲液漂洗, 酒精系列脱水后入醋酸异戊酯, 临界点干燥, 喷金, KYKY-1000B 型扫描电镜观察。

**透射电镜:** 将精子悬液用 2.5% 戊二醛 (含 1% 丹宁酸) 固定 3h, 置离心机中, 5000r/min 离心 15min, 得沉淀物, 经 0.1mol/L (pH7.2) 磷酸缓冲液漂洗, 后用 1% 锇酸后固定 1h, 酒精系列脱水, Epon812 包埋, LKB 型超薄切片机切片, 醋酸铀和柠檬酸铅双重染色, H-600 型透射电镜观察。

**细胞化学:** 将精荚用 Carnoy's 液固定, 常规石蜡包埋与切片, Feulgen 反应以显示

胞核, PAS 反应以显示多糖, Olympus BH-2 型显微镜观察。

## 2 结果

### 2.1 日本沼虾精子的形态

扫描电镜显示, 日本沼虾精子形似一“外翻的伞”(everted umbrella)。精子全长约 11—14 $\mu\text{m}$ , 由前端棘突和后主体部组成。主体部形似杯状, 直径约 12—14 $\mu\text{m}$ , 高约 3 $\mu\text{m}$ , 其外周边缘呈皱折状或不规则形状; 伞面分布有 15—20 根脊突形放射状纤丝(radial fibrils)并向凸面中央汇聚形成单一棘突。棘突长约 8—11 $\mu\text{m}$ , 基部直径约 810nm, 向顶端逐渐变细, 至顶端时直径约 300nm(图版 I: 1, 2)。

### 2.2 日本沼虾精子的超微结构

透射电镜显示, 日本沼虾精子由后主体部(main-body part)、中间帽状体(cap-shaped body)和前端棘突(spike)三部分组成。

**2.2.1 后主体部** 含有细胞核, 核为一絮状、非致密区域, 几乎完全充满杯状的主体部。细胞化学显示, 核呈 Feulgen 反应阳性, PAS 反应阴性。核外无明显的核膜包被, 仅在核的前侧有极少残存的核膜片段, 它们与帽状体的后侧质膜相互紧贴; 核的后侧具一层质膜包被(图版 I: 3)。

**2.2.2 中间帽状体** 位于主体部和棘突之间, 电子致密度较高, 15—20 根放射状纤丝组成了帽状体的主要亚显微结构。放射状纤丝直径约 350nm, 具有清晰可见的、间隔性的环纹和直径约 4—7nm 的丝状体(filament), 环纹间的距离约 35nm(图版 I: 4)。此外, 在帽状体的细胞质带内, 一对中心粒(centriole)位于其非正中部位, 每个中心粒直径约 310nm, 长约 450nm, 包含有九个双联体微管, 中心粒的中央被一絮状物质占据(图版 I: 5)。细胞化学显示, 帽状体呈弱的 PAS 阳性反应。

**2.2.3 棘突** 主要由帽状体内的放射状纤丝在其凸面中央汇聚、延伸而成(图版 I: 3, 6)。棘突具有间隔约 35nm 的环纹以及与之相垂直的、直径约 4—7nm 的丝状体(图版 I: 7), 这与帽状体内放射状纤丝的情况相同。此外, 在近棘突顶端的横切或斜切面中可见到直径约 65nm 的微管状结构(图版 I: 8)。细胞化学显示, 棘突呈 Feulgen 和 PAS 阴性反应。

## 3 讨论

日本沼虾成熟精子的基本形态与其他十足目游泳亚目单棘型精子一样, 主要由前端棘突、中间帽状体和后主体部组成<sup>[3, 5, 7, 8]</sup>。精子内不具线粒体, 其棘突不具鞭毛结构, 因此日本沼虾精子属无鞭毛、不运动类型。

与典型的十足目甲壳动物精子一样, 日本沼虾精子的核属非浓缩型。其核外无核膜包被, 这也与一些十足目甲壳动物精子相同<sup>[1, 7, 9, 10]</sup>。至于核前具有的少量核膜片段, 作者认为这是精子在获能过程中, 核膜消失不完全而残存下来的。Koehler 曾报道卑湿小长臂虾(*Palaemonetes paludosus*)精子的核与其后侧质膜间具有泡状(blebbing)和螺旋状(whorl)结构<sup>[9]</sup>。作者曾用戊二醛(含 1% 丹宁酸)分别固定游离精子和精荚, 研究发现 Koehler 所描述的上述结构也曾在精荚内的精子中出现, 游离精子无上述结构。作者认

为这可能是精子在匀浆过程中由于受到水或机械压力影响而获能的结果, 这与 Clark 和林勤武等的结论<sup>[10,3]</sup> 相似。

日本沼虾精子的放射状纤丝和棘突内具有环纹和丝状体, 这与卑湿小长臂虾和罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 等精子相似<sup>[5, 7]</sup>。其作用可能是在受精时发生收缩从而导致棘突发生定向的弯曲<sup>[11]</sup>。至于棘突近顶端所具有的微管状结构, 其功能有待进一步研究。

在过去的报道中, 十足目游泳亚目对虾派的中国对虾 (*Penaeus chinensis*) 和长毛对虾 (*Penaeus peni*) 精子皆无中心粒<sup>[3, 4]</sup>, 真虾派的卑湿小长臂虾精子无中心粒<sup>[5]</sup>, 而罗氏沼虾精子却具有中心粒<sup>[7]</sup>。本研究表明, 日本沼虾精子具有一对中心粒, 其形态和位置与罗氏沼虾精子的基本相同。由双联体而不是三联体组成中心粒, 这与十足目爬行亚目中的颗粒隐足蟹 (*Heterocryta granulate*)、中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 等精子中的中心粒也是相同的<sup>[12, 2]</sup>, 其作用可能是作为丝状体等收缩过程的控制中心<sup>[10]</sup>。

在游泳亚目的一些种类中, 棘突被认为是顶体的一部分<sup>[10]</sup>, 或是由顶体组成<sup>[4]</sup>。本研究表明, 日本沼虾精子的棘突在超微结构上不具有顶体的结构; PAS 反应显示, 棘突不含多糖物质, 但欲从细胞化学角度证实棘突是否是顶体或顶体的一部分, 尚需用酸性磷酸酶反应等方法作进一步的研究。

### 参 考 文 献

- [1] Talbot P, et al. The structure of sperm from *Panulirus*, the spiny lobster with special regard to the acrosome. *J. Ultrastruct. Res.*, 1978, **64**: 341—351.
- [2] 堵南山等. 中华绒螯蟹精子的研究 I. 精子的形态和超微结构. 海洋与湖沼, 1987, **18** (2): 119—125.
- [3] 林勤武等. 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, 1991, **22** (5): 397—401.
- [4] 洪水根等. 长毛对虾精子发生的研究 I. 精子的形态结构. 动物学报, 1993, **39** (3): 239—242.
- [5] Koehler L D. A unique case of cytodifferentiation: Spermiogenesis of the prawn, *Palaemonetes paludosus*. *J. Ultrastruct. Res.* 1979, **69**: 109—120.
- [6] Sandifer P A, et al. Artificial insemination of Caridean shrimp, in "Advances in Invertebrate Reproduction", 271—288, W H Clark and T S Adams, eds. Elsevier /North Holland Press, NY. 1975.
- [7] Lynn J W, et al. The fine structure of the mature sperm of the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, *Biol. Bull.* 1983, **164**: 459—470.
- [8] Sellos D, et al. Changes in basic nuclear proteins during sperm maturation in *Palaemon serratus*. *Cell Differ.* 1981, **10**: 68—77.
- [9] Clark W H, et al. In vitro fertilization with nonmotile spermatozoa of the brown shrimp *Penaeus aztecus*. *Mar. Biol.* 1973, **22**: 353—354.
- [10] Kleve M G, et al. Fine structure of the unistellate sperm of the shrimp, *Sicyonia ingentis* (Natantia). *Tissue cell*, 1980, **12**: 29—45.
- [11] Lynn J W, et al. A morphological examination of sperm-egg interaction in the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Biol. Bull.* 1983, **164**: 446—458.
- [12] Hinsch G W. Macrotubules in sperm of the spider crab, *Libinia emarginata* L. *J. Ultrastruct. Res.* 1969, **29**: 525—534.

**THE MORPHOLOGY AND ULTRASTRUCTURE OF THE  
SPERM OF THE FRESHWATER SHRIMP  
*MACROBRACHIUM NIPPONENSE***

Xi Yilong and Tan Qikun

(Department of Biology, Anhui Normal University, Wuhu 241000)

**Abstract**

The morphology and ultrastructure of the sperm of the freshwater shrimp, *Macrobrachium nipponense*, were studied with electron microscopy and cytochemical methods. The results show that the nonflagellated, nonmotile sperm resembles everted umbrella and is composed of spike— anterior in position, cap—shaped part at the middle and main—body part at the rear which contains a nucleus. The nucleus is decondensed and contains many flocculent materials. The nucleus is not delimited by a nuclear membrane and shows feulgen positive. The cytoplasm of the cap—shaped part contains a pair of centrioles which is composed of nine doublet tubules and 15—20 radial fibrils which anastomose to form the spike. Both the spike and the radial fibrils are cross—striated with a periodicity of 35 nm. These structures contain 4—7 nm filaments running perpendicularly to the cross striation. No clearly definable acrosomal region is identifiable morphologically.

**Key words** Shrimp (*Macrobrachium nipponense*), Sperm, Ultrastructure

## 图 版 说 明

## 图 版 I

1. 精子的形态, 示主体部(M)、棘突(SP)和放射状纤丝(→),  $\times 5, 850$ ; 2. 精子形态, 示杯状的主体部(M)和棘突(SP),  $\times 9, 500$ ; 3. 精子纵切, 示细胞核(N)、帽状体(CB)和棘突(SP),  $\times 6, 000$ ; 4. 放射状纤丝内的环纹和丝状体,  $\times 30, 000$ ; 5. 帽状体内的中心粒(C),  $\times 30, 000$ ; 5a. 中心粒纵切,  $\times 35, 000$ ; 6. 棘突基部相汇聚的放射状纤丝,  $\times 50, 000$ ; 7. 棘突内的环纹和丝状体,  $\times 30, 000$ ; 8. 棘突近顶端内的微管状结构(→),  $\times 23, 000$

1. A morphology of sperm, showing main-body part (M), spike (SP) and radial fibril (→),  $\times 5, 850$ ; 2. A morphology of sperm, showing cupshaped main-body part (M) and spike (SP),  $\times 9, 590$ ; 3. A longitudinal section of sperm, showing nucleus (N), cap-shaped body (CB) and spike (SP),  $\times 6, 000$ ; 4. Cross striation and filament in radial fibril,  $\times 30, 000$ ; 5. Centriole (C) in cap-shaped body,  $\times 30, 000$ ; 5a. A longitudinal section of centriole,  $\times 35, 000$ ; 6. Anastomosing radial fibrils in the base of spike,  $\times 50, 000$ ; 7. Cross striation and filament in spike,  $\times 30, 000$ ; 8. Microtubular structure (→) in approximate tip of spike,  $\times 23, 000$