

安得爱胜蚓精子及精子形成的超微结构^{*}

陆雅君 邱江平

(上海交通大学农学院 上海 201101)

摘要: 利用透射电镜研究了安得爱胜蚓 (*Eisenia anderi*) 精子的超微结构及其形成过程。精子呈纤毛状, 由顶体、核、中段和鞭毛四部分组成, 全长 92 μm 左右。储精囊中可见成束的各种发育阶段的生精细胞。文中详细描述了从精子细胞到成熟精子的精子形成过程。

关键词: 爱胜蚓; 精子; 超微结构; 精子形成

中图分类号: Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2002)03-09-06

An Ultrastructural Study of Sperm and Spermiogenesis in *Eisenia anderi*

LU Ya-Jun QIU Jiang-Ping

(Agricultural College, Shanghai Jiao-Tong University Shanghai 201101, China)

Abstract: This paper describes the ultrastructure of sperm and the spermatogenesis of *Eisenia anderi* Bouché. The sperm of *E. anderi* is fibrous-tike, including four parts: acrosome, nucleus, midpiece and flagellum, with a length of about 92 μm . In the seminal vesicle, different stages of development of sperm cell bundle were observed. The description of spermiogenesis from spermatid to mature sperm is given in detail.

Key words: *Eisenia*; Sperm; Ultrastructure; Spermiogenesis

关于寡毛纲动物的超微结构国外已有广泛的研究^[1-6], 有关其精子和精子发生也有许多报道^[7-12], 而在国内, 对蚯蚓的超微结构研究尚未见报道。安得爱胜蚓 (*Eisenia anderi*) 在分类学上属于环节动物门寡毛纲正蚓目正蚓科爱胜蚓属^[13], 为赤子爱胜蚓 (*E. foetida*) 的近缘种^[14,15], 也是目前在环保、医药和科研上应用最多的蚯蚓种类之一^[16,17]。随着人们对蚯蚓经济价值认识的提高, 特别是其在改良土壤结构、城市垃圾和污水处理等环境保护方面的特殊作用, 对蚯蚓的基础研究也日益得到重视。作者对 *E. anderi* 和其它蚯蚓的应用及生物学特性正在作深入研究, 其中关于精子及精子形成的超微结构报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料 研究用标本取自实验室养殖的 *E. anderi*, 该种群引自法国国家农业科学研究院土壤动物生态学实验室 (Montpellier)。

1.2 方法 成熟蚯蚓活体用 2.5% 戊二醛固定杀死后解剖, 取受精囊加磷酸缓冲液经研磨后磷钨酸负染。另取受精囊和储精囊用 2.5% 戊二醛和 1% 锇酸双重固定, 乙醇-丙酮系列脱水, 环氧树脂 618 包埋, 超薄切片用醋酸双氧铀和

^{*} 上海市自然科学基金资助项目;

第一作者介绍 陆雅君, 女, 57 岁, 高级实验师; 主要从事细胞超微结构研究。

收稿日期: 2001-05-10, 修回日期: 2001-08-01

柠檬酸染色后 JEM-100CX 电镜观察拍片。

2 结果

2.1 精子的形态 受精囊中的成熟精子经负染观察,精子呈纤毛状,长达 $92\ \mu\text{m}$ 左右,和大多数动物的精子一样,分为头、颈和尾三部分(图版 I:1)。

头部:头部的前后又明显分顶体和核。顶体长 $5.5\ \mu\text{m}$,直径约 $0.4\ \mu\text{m}$,顶体的顶端锥形,在圆筒形顶体内有初级顶体囊泡、次级顶体囊泡、顶体管、围轴鞘、轴棒、轴棒头,连接膜等复杂结构(图版 I:2~4)。顶体后是极度延长的核,核长 $28\ \mu\text{m}$,直径比顶体基部略小,约为 $0.38\ \mu\text{m}$ 。成熟精子的核质高度浓缩,电子密度高且均匀,核膜和质膜间空隙小,内不含糖元和微管等任何细胞器,核的前端和顶体相邻,后端和中段相邻。相邻处的界线明显,并都较平坦(图版 I:2,3e,4)。

颈部:颈部又称中段,长 $6.4\ \mu\text{m}$,主要由 6 个辐射状紧密排列的线粒体组成,线粒体嵴少,外由细胞膜紧紧包裹,直径为 $0.35\ \mu\text{m}$ 左右。成熟精子线粒体周围无糖元分布(图版 I:3f;图版 II:11,14;图版 III:20)。

尾部:尾部主要由鞭毛组成。鞭毛和中段相联处有一特殊结构,它由远轴中心粒、实心杆和致密环组成(图版 III:19),由此向后长达 50 多 μm 鞭毛轴丝的构型为典型的 $9+2$,直径开始为 $0.3\ \mu\text{m}$,向后缓缓变细,末端仅为 $0.15\ \mu\text{m}$ 左右(图版 I:2), $9+2$ 构型的轴丝周围分布许多糖元颗粒,随着鞭毛直径的减小,糖元颗粒的数量也逐渐减少直至消失(图版 I:3h;图版 II:14;图版 III:19,20)。

2.2 精子形成 精原细胞发育到 16~32 个细胞组成的细胞束时从精巢释放到贮精囊,观察贮精囊切片,可见到由不同数量组成的细胞束(图版 I:5),一般情况下,32 个细胞一束的初级精母细胞,64 个细胞一束组成的次级精母细胞和 128 个一束的精子细胞。尽管由于切片局限,一个切面每束精子细胞数目不一定完整出现,大量的观察可以确定一束细胞处于那个发

生阶段。同束的每一个细胞和支持细胞相联接,联接处无质膜分隔,细胞质狭长,称之为领带。领带质膜内外侧均有电子致密物质附着而特别加厚(图版 II:9,10)。精子细胞最初是圆形的,近似等轴的细胞,核大也呈圆形,无核仁,核周围的细胞质中有许多内质网和糖元颗粒,高尔基体发达,线粒体少许且分散(图版 I:6)。

随着精子细胞的伸长,同时伸长的核贴近领带,高尔基体明显位于细胞的远轴处,在远轴处还出现中心粒和成群的线粒体(图版 II:7~9)。为方便起见,现将精子细胞各部分在精子成熟过程中继续的变化分别叙述如下。

2.2.1 核和微管 微管的形成和核的致密密切相关。最初的精子细胞核接近圆形,几乎占据大部精子细胞,染色质是小颗粒均匀分布于核内,基本上见不到微管(图版 I:6)。核的延长起始于纵向微管的产生(图版 III:18,20)。许多微管组成微管轴,它们绕核周围,这时核池略显膨胀。随着细胞的延长,染色质收缩,最后变成电子密度很高的致密团。围核微管轴的微管数目减少,而细胞质中游离微管数目增加,最后,当发育为成熟精子时,这部分的微管全部消失(图版 I:3e)。

2.2.2 中段的形成 在精子形成的一开始,细胞质中的线粒体分为两组,一组移到支持细胞,另一组在细胞的远轴处(图版 II:8,11)集中在一起,不久,除此外的细胞其它部位线粒体都不存在。远轴处 6 个线粒体互相接近并紧密接触,它们的外膜挤压在一起形成隔膜,从中心向外辐射,轴中心留有很小的空隙,每个线粒体的内膜有少量嵴向内突起。从开始伸长时的细胞到成熟的精子中段线粒体数目维持不变(图版 I:3;图版 III:18,20),也有被称为副核。它们在精子形成过程中随之延长(图版 II:14),与核一样,在副核的周围有微管随精子的伸长出现,在精子发育成熟时消失。

2.2.3 顶体和高尔基体 每个精子细胞具有 1~2 个高尔基复合体,它由一堆多达 12、13 片的扁平池及其周围的囊泡组成,这些池要比一般体细胞的来得伸展,它处在核的远轴端,在此

附近顶体和鞭毛产生(图版 II:7~9)。可见高尔基复合体在其中具有重要的分泌作用,产生的物质用于顶体的形成。在逐步伸长的精细胞中,高尔基体移于核和中段线粒体周围的细胞质中(图版 II:12),后期精子细胞核继续伸长,细胞质的体积缩小,随之高尔基复合体消失。

顶体的最早原基开始于紧靠高尔基复合体的质膜下,它是具有电子致密物的帽状小泡,被称作初级顶体囊泡,质膜就盖在小泡的凸面,随着凸面越来越明显,逐渐与高尔基体失去联系。顶体稍后出现的另一变化是紧挨在初级顶体囊泡下。它由中间电子致密颗粒和周围的围轴鞘组成。致密颗粒以后开成轴棒。轴棒顶端膨大成轴棒头,插入初级顶体囊泡,轴棒基部略收缩,周围形成的空间叫做次级顶体囊泡。顶体发育中第三个出现非常早的结构是顶体管。它在顶体的基部,围轴鞘的外侧,此管上方是初级顶体囊泡圆形的边缘,顶体管很快向后延伸直达核的顶部(图版 II:13;图版 III:15~17)。顶体管的伸长最后结果把顶体的初级囊泡等其它结构全部包围在内(图版 I:2,4)。

2.2.4 鞭毛 精子的鞭毛位于尾部,主要由鞭毛轴丝和周围的糖元颗粒组成。轴丝具正常 9+2 构型,周围 9 对二联管。二联管的 2 个管子中间有共同的壁,不具小臂。轴丝中心 2 个单体微管,在鞭毛的近轴的一段。轴丝中心 2 个单体微管外还有 2 个致密小单元,与 2 个单根微管组成正方形图(图版 III:20)。在精子细胞开始伸长时,线粒体群移向细胞一端。这些线粒体附近可观察到一对互相垂直的中心粒(图版 II:7~9;图版 III:21)。精子发生开始,两中心粒分开,其中一个中心粒离核较近,不久后消失,另一个位于线粒体远轴处,形成鞭毛轴丝的基体。精子细胞开始伸长时,顶体、线粒体、中心粒和由此发出的鞭毛轴丝都位于细胞的远轴处,相邻存在。以后细胞极度延长,并脱离了支持细胞。顶体和鞭毛逐渐远离,最后分别成为成熟精子的前、后端。

在精子形成过程中,由于细胞内容物的变化和体积收缩,可见到有宽松的膜向外凸起,膜

内有各种大小泡,估计正在排除多余的细胞质成分(图版 II:8;图版 III:20)。

3 讨论

与国外有关文献比较^[1,3,5,18,19],安德爱胜蚓精子超微结构同已作报道的寡毛纲其它种类的精子具相似的结构,都可分为三部分:头、中段和鞭毛。各部分的功能与其它动物的精子一样有比较一致的认识,已报告的寡毛纲^[1,3,7,9,12,20]精子的结构和发生仅在一些细小之处的差异,如核的浓缩伸长过程中颤蚓科(Tubificidae)^[9,21]的核有明显的旋转,排列在周围的微管随之旋转,在不同种类之间,微管排列的图形不同。然而在核的形状和微管的图形之间不具直接的关系。

精子的中段在寡毛纲都是圆柱形的结构,由互相挤压并延长的线粒体组成,线粒体的数目在 Tubificidae 从 2 个(*Tubifex*)到 4 个(*Limnodriloides winckelmanni*)到 5 个(*Heterodrilus queenslandicus*)或 4 到 6 个(*L. winckelmanni*),与核一样有的发生旋转,有的却是直的。

蚯蚓精子顶体的结构相对比较复杂。不同种类形态差异较大,如 Tubificid, Enchytraeid, Phreodrilid, Megascolecid, Lumbricid 的精子都有初级顶体囊泡、次级顶体囊泡、顶体管、轴杆等结构,但其形态差别明显;而围轴鞘、轴杆头联接膜等结构则在有的科的精子中甚至没有。亲缘越近,顶体的形态差异越小。*Eisenia anderi* 的顶体结构具有正蚓类完全一致的模式。科内的差异仅在大小和比例等细微处。顶体被普遍认为有帮助精子的核进入卵达到受精的作用。Henley^[8]从负染观察到一根笔直的细毛样物从顶体突出,它的长度等于中轴棒,而此时在精子中不再见到中轴棒。顶体中的其它结构究竟还有什么用途,很少有关于这方面的报道。

蚯蚓精子尾部的鞭毛轴丝都为 9+2 的微管图形,近轴段中心四方形的图形在正蚓和巨蚓中也有报道。有关报告中二联体均无小臂。轴丝周围的糖元颗粒在纵切和横切面上均显示排列均匀整齐,已被证明为 β -糖元^[1],为精子运

动的重要能量来源。鞭毛轴丝由中心粒出发(图版 II:7),中心粒的典型结构是由9组三联微管组成(图版 III:21),本文(图版 III:20)中显示的切片与典型中心粒不同,由9小撮有规则排列的微丝组成,每小撮有10多根微丝。该切面可能位于中心粒边缘。

有关寡毛纲精子超微结构的文献表明,顶体都位于高尔基体外边的质膜下。早期出现的三个顶体原基和由此形成的顶体结构中,都具有顶体管、初级囊泡、次级囊泡、轴棒。不同种之间的差别仅在大小和形状方面。顶体的一些其它结构差别较大。

显然,不同种类精子结构的差异大小与其间的亲缘关系相关。正蚓科之间的精子构造非常接近^[1,2],因此,研究精子及精子形成可为系统分类提供部分依据。值得一提的是精子的大小与蚯蚓个体的大小并不相关,许多个体较小的蚯蚓都具有较大的精子^[1]。*Eisenia anderi*的个体较小,而它的精子的长度却几乎处于最长之列。

参 考 文 献

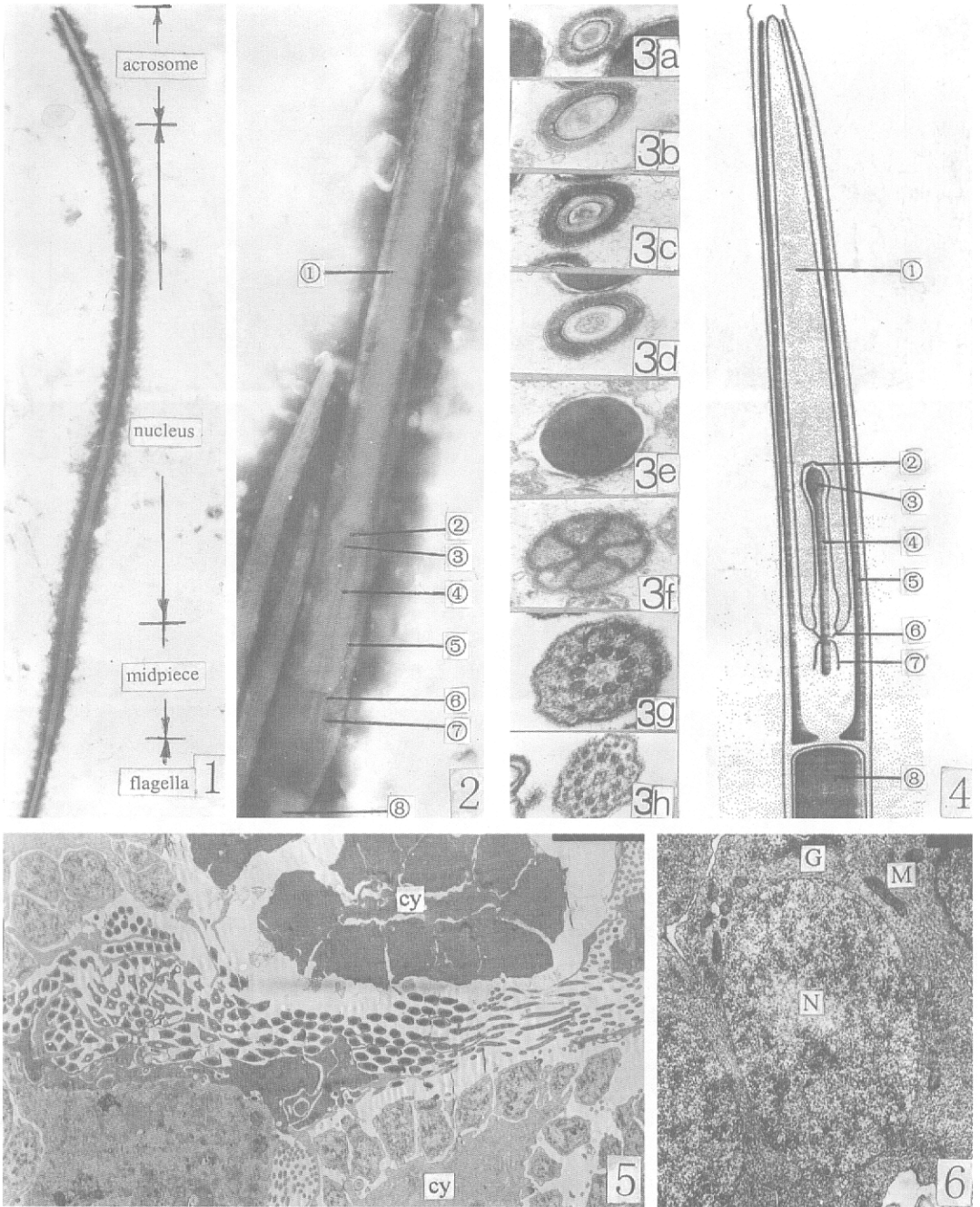
- [1] Jamieson B G M. The Ultrastructure of the Oligochaeta. London: Academic Press, 1981a. 1 ~ 462.
- [2] Anderson W A, Weissman A, Ellis R A. Cytodifferentiation during spermiogenesis in *Lumbricus terrestris*. *Journal of Cell Biology*, 1967, **32**: 11 ~ 26.
- [3] Chapron C, Relexans J C. Ultrastructure des gonocytes primordiaux et des gonies chez l'hermaphrodite *Eisenia foetida* (Oligochètes lombricidé). *Compt Rendu Hebdomadaire des séances de l'Académie des Sciences Paris, D*, 1971, **272**: 2 916 ~ 2 919.
- [4] Rota E, Lupetti P. An ustrastructural investigation of *Hrabeiella Pízl & Chalupský*, 1984 (Annelida). Chaetae and body organization. *Hydrobiologia*, 1996, **334**: 229 ~ 239.
- [5] Ferraguti M, Lanzavecchia G. Comparative electron microscopic studies of muscle and sperm cells in *Branchiobdella pentodonta* Whitman and *Bythonomus lemani* Grube (Annelida, Clitellata). *Zoomorphologie*, 1977, **88**: 19 ~ 36.
- [6] Webster P M, Richards K S. Spermiogenesis in the enchytraeid *Lumbricillus rivalis* (Oligochaeta: Annelida). *Journal of Ultrastructure Research*, 1977, **61**: 62 ~ 77.
- [7] Ferraguti M, Lanzavecchia G. Morphogenetic effects of microtubules. I. Spermiogenesis in Annelida Tubificidae. *Journal of Submicroscopic Cytology*, 1971, **3**: 121 ~ 137.
- [8] Henley C. Ultrastructure of the spermatozoon of the earthworm as revealed by negative staining. *Journal of Morphology*, 1973, **140**: 197 ~ 213.
- [9] Jamieson B G M. A comparison of spermiogenesis and spermatozoal ultrastructure in megascoclecid and *Lumbricid earthworms* (Oligochaeta: Annelida). *Australian Journal of Zoology*, 1978, **26**: 225 ~ 240.
- [10] Jamieson B G M, Daddow L, Bennett J D. Ultrastructure of the tubificid acrosome (Annelida, Oligochaeta). *Zoologica Scripta*, 1978, **7**: 115 ~ 118.
- [11] Martinucci G B, Felluga B. Mitochondria-mediated chromatin condensation and nucleus reshaping during spermiogenesis in Lumbricidae. *Journal of Submicroscopic Cytology*, 1979, **11**: 221 ~ 228.
- [12] Weissman A, Anderson W A. Ultrastructural observations of spermiogenesis in *Lumbricus terrestris*. *Journal of Cell Biology*, 1965, **27**: 145A.
- [13] Bouché M B. L' évolution spatiotemporelle des lombriciens. *Doc Pédzoool Intégral*, 1998, **3**(1): 1 ~ 28.
- [14] Bouché M B. Lombriciens de France. Ecologie et Systématique ed. INRA, *Ann Zool-écol Anim*, Numéro Spécial, 1972, **72-2**: 1 ~ 671.
- [15] Qiu J P, Bouché M B. Révision des taxons supraspécifiques de Lumbricoidea. *Doc Pédzoool Intégral*, 1998, **3**(6): 179 ~ 216.
- [16] Bouché M B, Qiu J P. Contributions concrètes des lombriciens aux études environnementales. *Doc Pédzoool Intégral*, 1998, **3**(8): 225 ~ 252.
- [17] 邱江平. 蚯蚓与环境保护. *贵州科学*, 2000, **18**(1 ~ 2): 116 ~ 133.
- [18] Martinucci G B, Felluga B. Ultrastructural observations on the testes of *Eisenia foetida* (Sav.). *Bollettino di Zoologia*, 1972, **39**: 693.
- [19] Martinucci G B, Felluga B, Carli S. Development and degeneration of cytophorus during spermiobistogenesis in *Eisenia foetida* (Sav.). *Bollettino di Zoologia*, 1977, **44**: 383 ~ 398.
- [20] Jamieson B G M. Ultrastructure of spermatogenesis in *Phreodrilus* (Phreodrilidae, Oligochaeta, Annelida). *Journal of Zoology* London, 1981b, **194**: 393 ~ 408.
- [21] Jamieson B G M, Daddow L. An ultrastructural study of microtubules and the acrosome in spermiogenesis of Tubificidae (Oligochaeta). *Journal of Ultrastructure Research*, 1979, **67**: 209 ~ 224.

陆雅君等：安得爱胜蚓精子及精子形成的超微结构

图版 I

LU Ya-Jun *et al.*: An Ultrastructural Study of Sperm and Spermiogenesis in *Eisenia anderi*

Plate I



1. 成熟精子负染, 示顶体、核、中段和鞭毛 $\times 3000$; 2. 顶体局部放大 $\times 21000$ ①初级顶体囊泡, ②次级顶体囊泡, ③轴棒头, ④轴棒, ⑤顶体管, ⑥联接膜, ⑦围轴鞘, ⑧核; 3. 精子各部横切 $\times 21000$ a. 顶体近末端, b. 顶体中部, c. 顶体轴棒部, d. 顶体基部, e. 核, f. 中段, g. 鞭毛基部, h. 鞭毛; 4. 顶体半模式图, 说明同图2; 5. 储精囊内不同阶段的细胞束 $\times 1300$; 6. 最初的精子细胞 $\times 8000$
 cy: 支持细胞; G: 高尔基体; M: 线粒体; N: 核

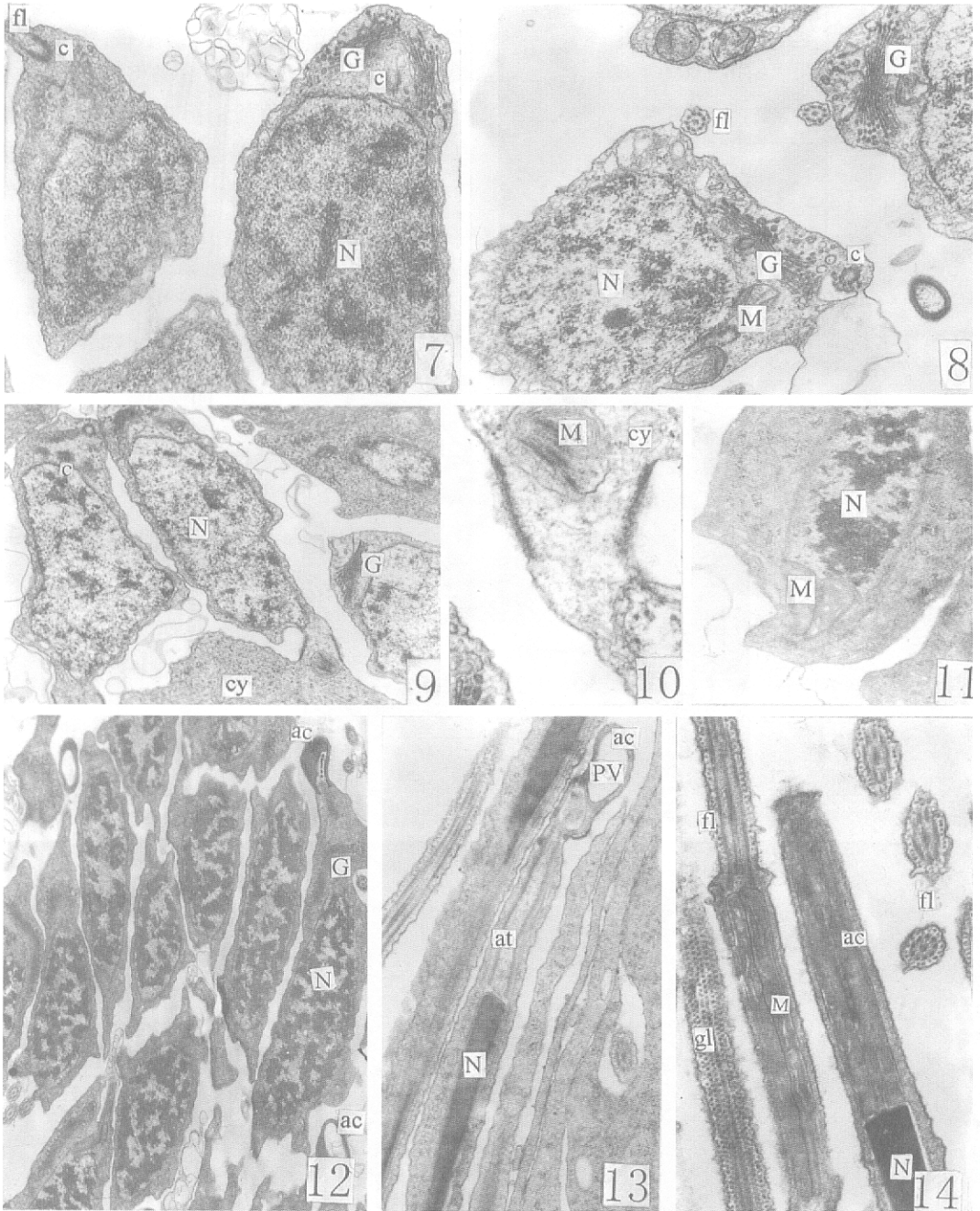
陆雅君等：安得爱胜蚓精子及精子形成的超微结构

图版 II

LU Ya-Jun *et al.*: An Ultrastructural Study of Sperm and Spermiogenesis in

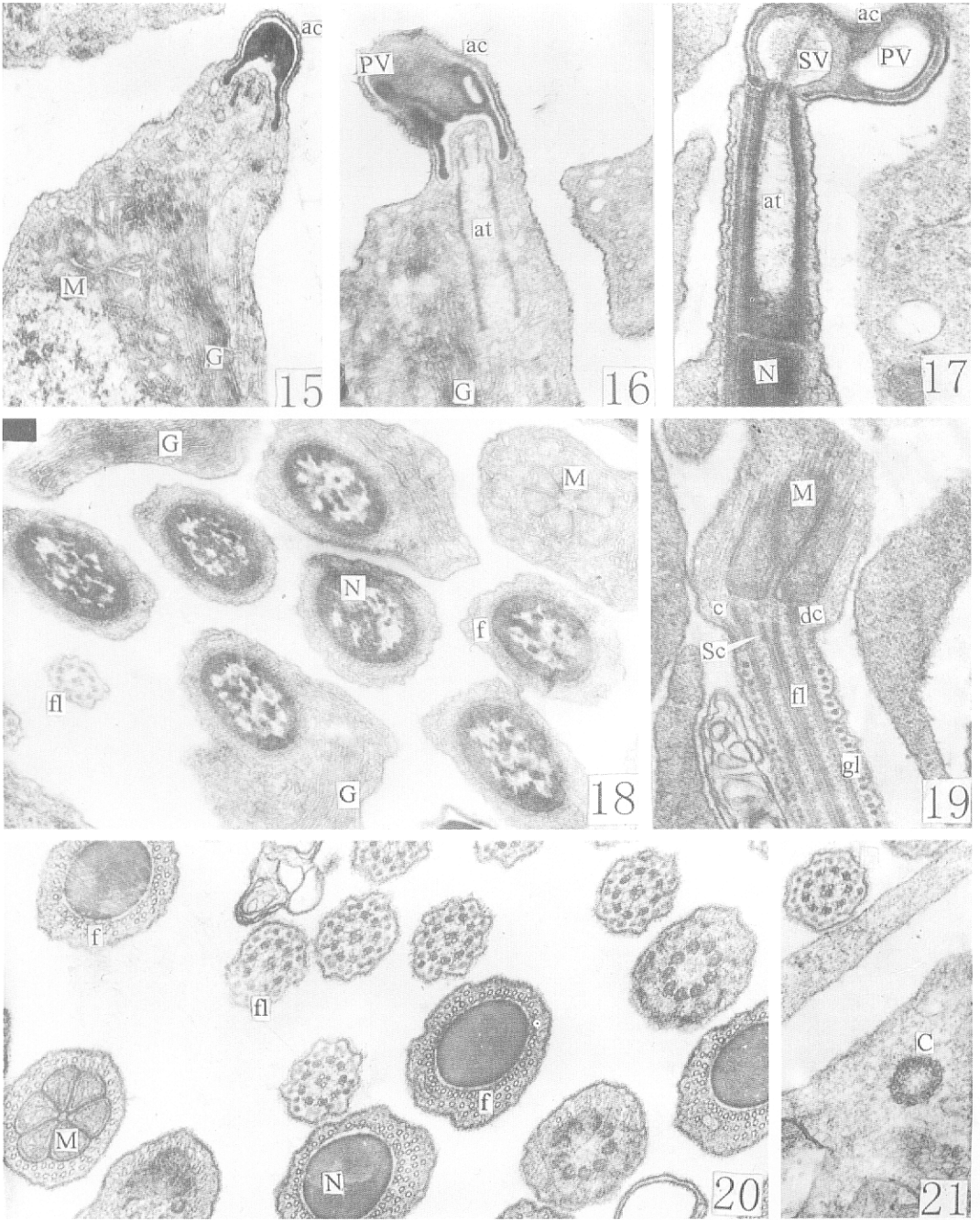
Eisenia anderi

Plate II



7~8. 开始伸长的精子细胞 × 15 000; 9. 进一步伸长的精子细胞 × 7 500; 10. 图 9 的局部放大, 示精子细胞和被寄生细胞相联处膜加厚 × 30 000; 11. 伸长精子细胞中线粒体集中在核一段 × 15 000; 12. 继续伸长的精子细胞纵切 × 5 000; 13~14. 接近成熟的精子细胞纵切 × 15 000 (图版 III 见封 2)

ac: 顶体; at: 顶体管; c: 中心粒; cy: 支持细胞; dc: 致密环; f: 微管; fl: 鞭毛; G: 高尔基体; gl: 糖元; M: 线粒体; N: 核; PV: 初级顶体囊泡; SC: 实心杆; SV: 次级顶体囊泡



15-17. 顶体形成 × 30 000; 18. 与图 12 同期细胞横切 × 20 000; 19. 伸长精子细胞鞭毛基部和中段联接处 × 40 000; 20. 高度伸长精子细胞横切 × 40 000; 21. 一精子细胞的中心粒 × 40 000

ac: 顶体; at: 顶体管; c: 中心粒; dc: 致密环; f: 微管; fl: 鞭毛; G: 高尔基体; gl: 糖元; M: 线粒体; N: 核; PV: 初级顶体囊泡; Sc: 实心杆; SV: 次级顶体囊泡