

翼手目动物的特殊生殖策略：精子贮存*

刘绪生 张树义** 梁冰

(中国科学院动物研究所 北京 100080)

摘要:介绍了精子贮存现象在翼手目动物中的分布、产生的原因、精子贮存的部位、贮存后的受精能力、精子长期贮存的机制及贮存过程中的免疫问题,并对将来的研究方向进行了展望。

关键词:蝙蝠;精子贮存

中图分类号:Q492 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3263(2002)05-91-04

Sperm Storage, a Peculiar Reproductive Strategy in Chiroptera

LIU Xu-Sheng ZHANG Shu-Yi LIANG Bing

(Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences Beijing 100080, China)

Abstract: This paper introduces the occurrence of sperm storage among Chiroptera, including: the site of storage, reason for sperm storage, fertility of sperm after storage and the mechanism and antigenicity of sperm storage. Suggestions for future research directions are also made.

Key words: Bats; Sperm storage

在某些种类的蝙蝠中存在一种奇特的生殖现象,秋季雌体交配后并不立即排卵、受精,而是将精子贮存于生殖器官中并度过冬眠期,待来年春季从冬眠中苏醒后再排卵、受精。除雌性外,雄性也能贮存精子:精子在睾丸中成熟后,被排入附睾并在其中停留数月,这样第二年春季冬眠结束后雄性就仍能与雌性交配授精。上述精子长期保存在雌性或雄性生殖器官中的现象,就称为精子贮存(sperm storage)。

自从精子贮存现象首次(1859年)由 Pagenstecher^[1] 在伏翼(*Pipistrellus pipistrellus*)中发现以来,研究者又相继在许多其它种类的蝙蝠中发现了此现象,并开展了多方面的研究。本文对这些方面的研究作一简要概述。

1 贮存精子的蝙蝠种类

全世界翼手目计有 18 科 960 多种^[2],到目前为止,已在约 40 多种蝙蝠中发现了精子贮存现象^[3]。这些蝙蝠大多属于蝙蝠科(Vespertilionidae)和菊头蝠科(Rhinolophidae),另外一些则属于犬吻蝠科(Molossidae)、狐蝠科(Pteropodidae)、鞘尾蝠科(Emballonuridae)、鼠尾蝠科(Rhinopomatidae)、叶口蝠科(Phyllostomidae)^[3,4]。

20 世纪 70 年代以前发现的具有贮精现象的蝙蝠均为食虫性的温带蝙蝠,其生殖周期中有一个冬眠期,贮精似乎是因为冬眠的原因^[4],因此那时的研究者认为贮存精子的现象为温带蝙蝠所独有。但后来这个观点被否定了,因为 70 年代后相继在一些热带蝙蝠如斯里兰卡伏翼(*Pipistrellus ceylonicus*)^[5]、大黄蝠(*Scotophilus heathi*)^[6]、香蕉伏翼(*Pipistrellus nanus*)^[7]中发现了精子贮存现象,这也从另一个侧面说明了精子贮存现象在翼手目动物中分布的广泛性。

2 精子贮存的部位及精子在贮存部位中的排列

雄性蝙蝠贮存精子的部位一般是附睾。西方伏翼

* 国家自然科学基金委杰出青年基金项目(No. 30025007),中科院“知识创新工程”重要创新方向项目(KSCX2-1-03)资助;

** 通讯作者;

第一作者介绍 刘绪生,男,26岁,博士研究生;研究方向:生殖生物学;E-mail: liuxusheng@yahoo.com.cn。

收稿日期:2001-10-05,修回日期:2002-05-20

(*Pipistrellus hesperus*)和东方伏翼(*Pipistrellus subflarus*)是个例外,它们贮存精子的部位是睾丸^[8,9]。雌蝙蝠贮存精子的部位因种而异,如马铁菊头蝠(*Rhinolophus ferrumequinum*)、垂婴蝶蝠(*Chalinolobus gouldii*)等贮精的部位为输卵管;伏翼、山蝠(*Nyctalus noctula*)等贮精的部位为子宫;萤鼠耳蝠(*Myotis lucifugus*)等则以子宫-输卵管连接处(utero-tubal junction)作为贮存精子的部位^[4]。

精子在贮存器官内并非杂乱无章地排列,而是同贮存部位的上皮细胞间存在着空间上的联系。子宫和输卵管内的精子一般以头部紧靠上皮细胞而定向排列于上皮细胞的表面^[10,11]。电镜观察表明,精子头部实际上是插在上皮细胞形成的微绒毛间^[12]。扁颅蝠(*Tylonycteris pachypus*)、褐扁颅蝠(*T. robustula*)精子的头部则嵌入输卵管上皮细胞膜内陷形成的缺口内,从外观上看就像是精子头部插入到了上皮细胞内^[10]。精子头部与上皮细胞间的紧密连接在交配结束后很快就形成了^[13]。精子与上皮细胞连接区域的空隙内存在有上皮细胞分泌的颗粒状分泌物,而且此处的氧分压(P_{O_2})也较高,表明上皮细胞对贮存的精子有营养作用^[10,12]。

附睾内的精子也排列于上皮细胞的表面,但有关这方面的研究较少,也没有证据表明二者之间存在着营养关系^[10,14]。

3 精子长期贮存后的受精能力

只有精子长期贮存后仍有受精能力,精子贮存才具有意义。目前虽已确定有约40多种蝙蝠具有精子贮存现象,但只在10种蝙蝠中进行了检验精子长期贮存后受精能力的研究^[3,10]。其中斯里兰卡伏翼贮存的精子保持受精能力的期限最短,只有19天^[5],最长的是山蝠,精子在附睾中贮存7个月后被取出,给雌体人工授精,雌蝙蝠仍能受孕并产下幼仔,表明此时的精子仍具有受精能力^[15]。

4 蝙蝠贮存精子的原因

温带蝙蝠的精子发生一般在夏末或秋初完成,秋季时雌雄交配。随着冬季的来临,气温降低、食物减少,蝙蝠被迫进入冬眠,此时无法进行妊娠过程,因此雌性将精子贮存起来,待来年春季冬眠结束后再排卵、受精,随后在春、夏季完成妊娠和哺乳过程。对于雄性贮精的种类来说,精子在附睾内保存数月,度过冬眠期,第二年春季冬眠结束后雌雄再交配、排卵,接着完成妊娠和哺乳过程。这样,通过精子贮存就能使妊娠和哺乳推迟到春、夏两季完成。这种推迟具有重要意义,因为妊娠和哺乳期要消耗大量能量,要求食物供应

充足,而春、夏两季气温较高,食物丰富,正好可以满足此种要求,因而能最大限度地提高雌性及其幼体的存活率^[3,4,16]。因此,对于温带蝙蝠来说,温度及食物供应可能是产生精子贮存的原因。

关于热带蝙蝠贮精的原因,至今仍不太清楚。虽然Bernard^[7]发现在香蕉伏翼(热带蝙蝠)的生活周期中有一段气温相对较低的旱季,香蕉伏翼也在这段时期蛰伏并贮精,但在其它热带蝙蝠中没有发现类似的蛰伏现象^[3],因此温度变化似乎不是热带蝙蝠贮精的原因。Racey^[4]推测热带蝙蝠贮精可能是为了使生殖同步化,但Hood等^[17]发现小长舌果蝠(*Macroglossus minimus*)有贮精现象,但其生殖却明显地不同步,因此生殖同步化也不是热带蝙蝠贮精的原因。

5 精子能长期贮存的机制

精子在贮存时没有运动能力^[3]。 Zn^{2+} 具有抑制精子运动的作用,在萤鼠耳蝠和洞鼠耳蝠的精子贮存部位就发现有大量 Zn^{2+} 存在^[18]。 Zn^{2+} 还具有抑制白细胞吞噬精子的作用。Hunter等^[19,20]在萤鼠耳蝠子宫内的精液中发现了一种蛋白质,该蛋白质能抑制所贮存精子的运动及白细胞的吞噬作用。除运动能力受到抑制外,贮存的精子顶体反应能力也应是受到抑制的,因为发生过顶体反应的精子是不能长期贮存的^[21],但到目前为止还没有相关的研究。

关于贮存器官内微环境与精子贮存的关系,Crichton等^[22]进行了一项很有启发意义的研究。他们测定了萤鼠耳蝠精子贮存期间附睾内液体渗透压的变化,发现精子贮存期间渗透压升高,约5倍于血浆的渗透压。体外实验表明,高渗透压使精子代谢减弱,失去运动能力,精子缩水而体积变小,呈休眠状态;当渗透压降低恢复至原先水平时,精子代谢增强,体积变大,最后恢复运动能力。基于上述实验结果,Crichton等推测了精子贮存期间附睾内可能发生的一系列事件:当蝙蝠进入冬眠时,溶质X(可能是一种蛋白质)从血浆通过上皮细胞进入附睾内,并转化为溶质Y,Y对于上皮细胞来说是不通透的,因而Y能在附睾腔内积累。随着Y的积累,渗透压逐渐上升,附睾腔的体积也增大,直至受到上皮细胞结构障碍的限制。在高渗的情况下,精子缩水而体积变小,代谢率降低,失去运动能力,进入休眠状态,因而能长期保存在附睾液中。当冬眠结束后,某种酶被激活,将Y重新转变为X,X渗透过上皮细胞而回到血浆中,附睾内渗透压下降,精子体积逐渐恢复正常并重新获得运动能力。

Crichton等^[23]后来通过冰冻蚀刻电镜技术进一步

研究了精子贮存期间附睾上皮细胞细胞间连接结构的变化。观察结果显示,精子开始在附睾腔中贮存后,上皮细胞间逐渐形成了一些紧密连接,类似于血-睾屏障(blood-testes barrier,生物体内最强的一种通透屏障)。这种紧密连接有两方面的作用,一是能抵抗附睾腔内高渗透压对上皮细胞的压力,使其免于胀裂;二是阻止血浆内的水分渗透进入附睾腔内。当精子贮存结束后,这种紧密连接结构消失,在其它季节也没有观察到这种紧密连接。这一研究结果从另一方面也支持了Crichton等^[22]上述的推测。

精子的一个生化特性是它们能产生活性氧原子(reactive oxygen species, ROS)。ROS是一种重要的细胞毒剂,因为它能诱导脂类的过氧化作用^[24]。哺乳动物的精子由于其细胞膜中含有大量的不饱和脂肪酸,而且细胞质内相对缺乏抑制过氧化作用的物质,因而对过氧化作用的伤害特别敏感^[25]。过氧化作用的直接后果就是降低精子的活力、运动能力和顶体反应能力^[26]。León-Galvan等^[27]研究发现墨西哥大耳蝠(*Corynorhinus mexicanus*)的精子贮存器官——子宫内的脂类过氧化反应很弱;体外实验显示,子宫液能显著地抑制猪精子的脂类过氧化反应。由此他们推测墨西哥大耳蝠子宫内可能存在某种物质,能抑制脂类过氧化反应,因而有利于精子的长期贮存。

尽管有上述众多关于精子贮存的机理,最终调控精子贮存的可能是激素。关于激素与精子贮存的关系,到目前为止还只是进行了初步的研究,尚未从本质上解释激素对精子贮存的调控。如Buchanan等^[28]测定了蜚鼠耳蝠血浆中孕酮的浓度变化,发现精子贮存期间此种雌激素的浓度降低;Racey等^[29]的测定显示,北美及澳大利亚的大部分贮精蝙蝠血浆中孕酮的浓度在精子贮存期间比贮存前低;蜚鼠耳蝠体内肾上腺雄酮的浓度在精子贮存期间上升^[3]。

6 精子贮存过程中的免疫问题

通常情况下雌性免疫系统会识别并攻击破坏外来细胞,但雌性贮精蝙蝠所贮存的精子却能长期保存于雌性生殖器官内而不被雌性免疫系统攻击。这一现象一直吸引着人们的浓厚兴趣,但到目前为止却对其知之甚少。

Hunter等^[30]通过电泳在蜚鼠耳蝠精液中发现了一种蛋白质,具有松弛平滑肌和减少淋巴细胞数量的作用,因而他们推测受精时该蛋白质与精子一起进入雌性生殖器官内,通过松弛平滑肌而阻止精子转移到受精点并抑制白细胞对精子的吞噬作用。

在其它哺乳动物中,受精后大量白细胞会侵入到雌性生殖器官内^[30],那些不贮存精子的蝙蝠在交配后白细胞也侵入到子宫内^[31]。与上述情况显著不同的是,贮精蝙蝠交配后生殖器官内没有发现白细胞^[10]。

虽然贮存期间精子不会被雌性免疫系统攻击,但排卵、受精后精子从雌性生殖系统的消失却是非常迅速的。伏翼和蜚鼠耳蝠的精子在贮存结束后被子宫上皮细胞吞噬^[10,32],马铁菊头蝠精子贮存结束后大量白细胞渗入到输卵管腔内^[33]。在普通长翼蝠内则是多形核细胞渗入子宫腔内吞噬剩余的精子^[34]。

7 展望

综上所述,研究者已从多方面对精子贮存进行了研究,增强了人们对这一现象的认识。但仍有很多问题还没有搞清,如精子贮存期间高渗现象是否在贮精蝙蝠中普遍存在?溶质X到底是何物质?它的生成、转运受何种途径的调控?贮精期间雌性生殖器官为什么不产生淋巴细胞?贮精器官的上皮细胞为什么不对排列在它表面的精子产生细胞免疫?激素是如何参与精子贮存的?热带蝙蝠为什么也有贮精现象?……这些都有待于进一步的研究。此外,如能搞清蝙蝠精子长期贮存的机制,并将之运用于人或家畜的精子保存,将具有重要的应用价值。

参 考 文 献

- [1] Pagenstecher H A. Ueber die Begattung von *Vesperugo pipistrellus*. *Verh Naturh-Med Ver Heidelb*, 1859, 1: 194 ~ 195.
- [2] Findley J S. *Bats: A Community Perspective*. Cambridge: Cambridge University Press, 1993.
- [3] Crichton E G, Krutzsch P H. *Reproductive Biology of Bats*. London: Academic Press, 2000. 295 ~ 320.
- [4] Racey P A. The prolonged storage and survival of spermatozoa in Chiroptera. *J Reprod Fert*, 1979, 56: 391 ~ 402.
- [5] Gopalakrishna A, Madhavan A. Survival of spermatozoa in the female genital tract of the Indian Vespertilionid bat, *Pipistrellus chrysathyx* (Wroughton). *Proc Indian Acad Sci*, 1971, B73: 43 ~ 49.
- [6] Gopalakrishna A, Madhavan A. Viability of inseminated spermatozoa in the Indian Vespertilionid bat *Scotophilus heathi* (Horsefield). *Indian J Exp Biol*, 1978, 16: 852 ~ 854.
- [7] Bernard R T F, Happold D C D, Happold M. Sperm storage in a seasonally reproducing Vespertilionid, the banana bat (*Pipistrellus nanus*) from Malawi. *J Zool, Lond*, 1997, 241: 161 ~ 174.
- [8] Krutzsch P H, Crichton E G. Reproduction in the canyon bat,

- Pipistrellus hesperus* in southwestern United States. *Am J Anat*, 1975, **143**: 163 ~ 200.
- [9] Krutzsch P H, Crichton E G. Reproduction of the male eastern pipistrellus, *Pipistrellus subflavus*, in the north-eastern United States. *J Reprod Fert*, 1986, **76**: 91 ~ 104.
- [10] Racey P A. The prolonged survival of spermatozoa in bats. In: Duckett J G, and Racey P A eds. *The Biology of the Male Gamete*. London: Academic Press, 1975.
- [11] Uchida T A, Mori T. Prolonged storage of spermatozoa in hibernating bats. In: Fenton M B, Racey P A, Rayner J M V eds. *Recent Advances in the Study of Bats*. Cambridge: Cambridge University Press, 1987.
- [12] Racey P A, Potts D M. Relationship between stored spermatozoa and the uterine epithelium in the pipistrellus bat *Pipistrellus pipistrellus*. *J Reprod Fert*, 1970, **22**: 57 ~ 63.
- [13] Racey P A, Uchida T A, Mori T *et al.* Sperm-epithelium relationship in relation to the time of insemination in little brown bats (*Myotis Lucifugus*). *J Reprod Fert*, 1987, **80**: 445 ~ 454.
- [14] Bernard R T F. Prolonged sperm storage in male Cape Horse-shoe bats. An alternative solution to the reproductive limitations of winter hibernation. *Naturwissenschaften*, 1988, **75**: 213 ~ 215.
- [15] Racey P A. The viability of spermatozoa after prolonged storage by male and female European bats. *Period Biol*, 1973, **75**: 201 ~ 205.
- [16] Altringham J D. *Bats: Biology and Behavior*. Oxford: Oxford University Press, 1996.
- [17] Hood C S, Smith J D. Sperm storage in a tropical nectar-feeding bat, *Macroglossus minimus* (Pteropodidae). *J Mamm*, 1989, **70**(2): 404 ~ 406.
- [18] Crichton E G, Krutzsch P H, Chrapil M. Studies on prolonged spermatozoa survival in Chiroptera-II. The role of zinc in the spermatozoa storage phenomenon. *Comp Biochem Physiol*, 1982, **71A**: 71 ~ 77.
- [19] Hunter A G, Barker L D S, Johnson W L *et al.* Antigenicity, toxicity and cross-reactions of male bat (*Myotis lucifugus*) reproductive organs. *J Reprod Fert*, 1971, **24**: 171 ~ 177.
- [20] Hunter A G, Johnson W L, Barker L D S *et al.* Bat seminal vesicle protein: its characterization and physiological properties. *J Reprod Fert*, 1971, **24**: 179 ~ 186.
- [21] Krutzsch P H, Crichton E G, Nagle R B. Studies on prolonged spermatozoa survival in Chiroptera: a morphological examination of storage and clearance of intrauterine and cauda epididymal spermatozoa in the bats *Myotis lucifugus* and *M. Velifer*. *Am J Anat*, 1982, **165**: 421 ~ 434.
- [22] Crichton E G, Hinton B T, Pallone T L *et al.* Hyperosmolality and sperm storage in hibernating bats: prolongation of sperm life by dehydration. *Am J Physiol*, 1994, **267**: 1 363 ~ 1 370.
- [23] Crichton E G, Suzuki F, Krutzsch P H *et al.* Unique features of the cauda epididymal epithelium of hibernating bats may promote sperm longevity. *Anat Rec*, 1993, **237**: 475 ~ 481.
- [24] Aitken R J, Clarkson J S. Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. *J Reprod Fert*, 1987, **81**: 459 ~ 469.
- [25] Griveau J F, Dumont E, Renard P *et al.* Reactive oxygen species, lipid peroxidation and enzymatic defense systems in human spermatozoa. *J Reprod Fert*, 1995, **103**: 17 ~ 26.
- [26] Iwasaki A, Gagnon C A. Formation of reactive oxygen species in spermatozoa of infertile patients. *Fertil Steril*, 1992, **57**: 409 ~ 416.
- [27] León-Galvan M A, Fonseca T, López-wilchis R *et al.* Prolonged storage of spermatozoa in the genital tract of female Mexican big-eared bats (*Corynorhinus mexicanus*): the role of lipid peroxidation). *Can J Zool*, 1999, **77**: 7 ~ 12.
- [28] Buchanan G D, Younglai E V. Plasma progesterone levels during pregnancy in the little brown bat *Myotis lucifugus* (Vespertilionidae). *Biol Reprod*, 1986, **34**: 878 ~ 884.
- [29] Racey P A. The reproductive cycle in male noctule bats, *Nyctalus noctula*. *J Reprod Fert*, 1974, **41**: 168 ~ 182.
- [30] Phillips D M S, Mahler S. Phagocytosis of spermatozoa by the rabbit vagina. *Anat Rec*, 1977, **189**: 61 ~ 72.
- [31] Uchida T A, Mori T. Electron microscope analysis of the mechanism of fertilization in Chiroptera. 1. Acrosomal reaction and consequence to death of the sperm in the Japanese long-fingered bat, *Miniopterus schreibersii fuliginosus*. *Sci Bull Agric Kyushu Univ*, 1974, **28**: 177 ~ 184.
- [32] Wimsatt W A, Krutzsch P H, Napolitano L. Studies on sperm survival mechanisms in the female reproductive tract of hibernating bats. 1. Cytology and ultra-structure of intra-uterine spermatozoa in *Myotis lucifugus*. *Am J Anat*, 1966, **119**: 25 ~ 60.
- [33] Uchida T A, Mori T, Oh Y K. Sperm invasion of the oviducal mucosa, fibroblastic phagocytosis and endometrial sloughing in the Japanese greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum nippon*. *Cell Tissue Res*, 1984, **236**: 327 ~ 331.
- [34] Mori T, Uchida T A. Sperm storage in the reproductive tract of the female Japanese long-fingered bat, *Miniopterus schreibersii fuliginosus*. *J Reprod Fert*, 1980, **58**: 429 ~ 433.