

拟目乌贼精子发生和精子的超微结构

罗江 蒋霞敏* 唐锋 彭瑞冰

宁波大学海洋学院 宁波 315211

摘要: 应用扫描电镜和透射电镜观察了拟目乌贼 (*Sepia lycidas*) 精子的发生过程和超微结构。结果表明, 精子发生经历了精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精细胞和成熟精子 5 个阶段, 其中精细胞可以分为 I、II、III、IV、V 5 个时期, 精细胞 II 期又可分为前期和后期。细胞核经历了一个横向收缩、纵向拉长的过程, 由圆形或椭圆形, 变为不规则的纺锤形、稍弯曲的长柱形; 核内染色质由絮状, 变为絮块状、致密颗粒状、细纤维状、粗纤维状和片层状, 直至高电子密度均质状; 顶体由圆形, 变为头盔形、圆锥形、倒“U”字形, 直至子弹头形; 线粒体由空泡状经过融合和迁移, 变为内嵴丰富的椭球形, 形成不完全包围鞭毛的线粒体距。成熟精子全长 101.28 μm , 由头部和尾部组成, 头部呈长辣椒状, 长 7.73 μm , 宽 1.51 μm , 由顶体和细胞核组成; 尾部细长, 为 93.18 μm , 为典型的“9+2”结构, 由中段、主段和末段三部分组成。

关键词: 拟目乌贼; 精子发生; 精子; 超微结构

中图分类号: Q492 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2014)01-71-12

Ultrastructure of Spermatogenesis and Mature Spermatozoa in *Sepia lycidas*

LUO Jiang JIANG Xia-Min* TANG Feng PENG Rui-Bing

Faculty of Marine Science, Ningbo University, Ningbo 315211, China

Abstract: The ultrastructures of spermatogenesis and mature spermatozoa in *Sepia lycidas* were determined by scanning electron microscopy and transmission electron microscopy. The results show that there are five developmental stages of spermatogenesis: spermatogonium, primary spermatocyte, secondary spermatocyte, spermatid, and mature spermatozoon. The spermatid undergoes five phases (I through V) for differentiation, and the phase II can be further divided into early and late periods. During spermatogenesis, the nucleus undergoes a process of lateral contraction and longitudinal elongation, making it convert from a round or oval shape to an irregular spindle-like shape, and finally to a slightly curved long cylinder shape; the size of the nucleus reduces from 6.27 $\mu\text{m} \times 5.84 \mu\text{m}$ to 5.75 $\mu\text{m} \times 1.53 \mu\text{m}$. The chromatin in the nucleus forms flocculent blocks, dense granules, fine fibers, crude fibers, and lamellae, and condenses into a region with a high electron density. The morphology of acrosome is also changed, from a round shape with a diameter of 1.02 μm , to helmet-like, conical, backward “U”-like, and finally to bullet-like with a length of 1.71 μm and a maximum width of 0.91 μm . The vacuole-shaped mitochondria experience migration and fusion, and they exhibit an oval shape with abundant cristae, and form a mitochondrial spur that incompletely surround the

基金项目 国家农业成果转化项目 (No. 2009GB2C220415), 宁波市重点科技项目 (No. 2011C11002);

* 通讯作者, E-mail: jiangxiamin@nbu.edu.cn;

第一作者介绍 罗江, 男, 硕士研究生; 研究方向: 水产动物苗种繁育; E-mail: luojiang1988@126.com。

收稿日期: 2013-05-27, **修回日期:** 2013-09-28

flagellum in the middle piece. The mature spermatozoa are 101.28 μm long, and consist of a head and a tail. The head shows a long pepper shape, approximately 7.73 μm in length and 1.15 μm in width, and it consists of an acrosome and a nucleus. The acrosome resembles a bullet with a length of 1.71 μm and a width of 0.91 μm , and the nucleus is slightly curved and cylindrical, and is approximately 5.75 μm long and 1.53 μm wide. The 93.18 μm long tail is slender with a typical “9 + 2” structure, and it consists of middle, principal, and end pieces.

Key words: *Sepia lycidas*; Spermatogenesis; Spermatozoon; Ultrastructure

动物精子的形态和发生过程是繁育生物学的重要研究内容之一,是生物体发生和发育的基础,其差异不仅是动物分类的依据,也是分析不同动物类群之间亲缘关系的重要依据(焦海峰等 2004)。目前,关于头足类精子发生及其超微结构的研究,国外报道较多,有珍珠鹦鹉螺(*Nautilus pompilius*) (Arnold 1978)、乌贼(*Sepia officinalis*) (Martínez-Soler et al. 2007)、旋壳乌贼(*Spirula spirula*) (Healy 1990a)、巨粒僧头乌贼(*Rossia macrosoma*) (Hou et al. 1992)、福氏枪乌贼(*Loligo forbesi*) (Maxwell 1975)、尖盘爱尔斗蛸(*Eledone cirrhosa*) (Maxwell 1974)、真蛸(*Octopus vulgaris*) (Ribes et al. 2004)、珀尔塞面蛸(*Opisthoteuthis Persephone*) (Healy 1993)和幽灵蛸(*Vampyroteuthis infernalis*) (Healy 1990b)等;国内鲜有报道,仅见曼氏无针乌贼(*Sepiella maindroni*) (叶素兰等 2008)、金乌贼(*Sepia esculenta*) (刘长琳等 2011)和嘉庚蛸(*Octopus tankahkeei*) (竺俊全等 2006)。

拟目乌贼(*S. lycidas*)隶属乌贼目乌贼科乌贼属,为浅海暖水性较强的底栖种,分布于印度洋-西太平洋海域(陈新军等 2009),在我国海南、台湾、广东、福建等沿海水域分布较多。目前,对拟目乌贼的研究,国外主要集中在胶原蛋白的鉴定和分离(Nagai et al. 2001)、幼体对 CO_2 的耐受性(Kikkawa et al. 2008)、受精行为(Wada et al. 2010)和捕食行为(Luck et al. 2012)等,国内有繁殖行为(文菁等 2012)、营养成分分析(蒋霞敏等 2012)、幼体摄食量(徐海红等 2012)和温度对幼体影响(蔡文飞等 2012)等的报道,迄今为止未见有

关精子发生及其超微结构的报道。本文采用扫描电镜和透射电镜技术,对拟目乌贼精子发生及精子的超微结构进行研究,以期丰富繁育生物学资料,为头足类增殖养殖提供理论依据和参考资料。

1 材料与方法

1.1 材料 野生拟目乌贼于 2012 年 2 ~ 5 月捕自福建省海域(117.18°E, 23.72°N),每月两次(大潮汛)随机挑选活力较好的雄性个体 10 ~ 15 只,共 97 只,测得体重为 2.05 ~ 4.10 kg,胴长为 29.32 ~ 34.24 cm,活体解剖取精巢和精液。

1.2 方法

1.2.1 透射电镜样品制备 精巢用刀片切成约 0.5 mm × 0.5 mm × 0.5 mm 的小块,精液用消毒的吸管取自精巢,均用过滤海水配制的 2.5% 戊二醛固定,4℃ 保存带回实验室,0.1 mol/L 的磷酸缓冲液充分漂洗后,用 1% 的锇酸于 4℃ 固定 2 h,梯度酒精和丙酮脱水,EPON812 氏环氧树脂渗透、包埋,LEICA-III 型超薄切片机制片,醋酸铀和柠檬酸铅双染色,日立 H-7650 型透射电镜观察并拍照。

1.2.2 扫描电镜样品制备 打开精巢,吸管吸取乳白色精液,用过滤海水配制的 2.5% 戊二醛固定,4℃ 保存带回实验室,0.1 mol/L 的磷酸缓冲液充分漂洗后,用 1% 的锇酸于 4℃ 固定 2 h,酒精梯度脱水,乙酸异戊脂置换,ES-2030 型 CO_2 临界点干燥仪干燥,LEICA-III 型离子溅射仪喷金,日立 S-3400N 型扫描电镜观察并拍照。

1.2.3 形态参数测量 各期细胞形态参数的测量直接在透射电镜照片上进行,随机挑选

10 个形态完整的细胞,测量其胞径、核径、顶体长和顶体宽等参数,精子全长的测量在扫描电镜照片上进行。

2 结 果

拟目乌贼精子的发生不同步,根据其发生过程中细胞形状的不同、细胞核形状的不同以及核内染色质形态的不同,可分为精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精细胞和成熟精子 5 个时期。

2.1 精原细胞 精原细胞呈圆形或椭圆形,胞体平均大小为 $8.16\ \mu\text{m} \times 6.66\ \mu\text{m}$,细胞核呈圆形或椭圆形,核平均大小为 $6.27\ \mu\text{m} \times 5.84\ \mu\text{m}$,核占据整个细胞的大部分(图版 I:1);细胞质中可见多个线粒体分布,呈圆形或椭圆形,其基质电子密度低,嵴少,似空泡状(图版 I:2);核内染色质呈絮状均匀分布,电子密度较低(图版 I:3)。

2.2 初级精母细胞 初级精母细胞由精原细胞转化而来,呈圆形或椭圆形,胞体平均大小为 $8.92\ \mu\text{m} \times 7.07\ \mu\text{m}$,在所有生精细胞中最大,细胞核呈圆形或椭圆形,核平均大小为 $6.91\ \mu\text{m} \times 5.54\ \mu\text{m}$ (图版 I:4);细胞质中可见典型的高尔基体,由平行排列的扁平囊及其周围的囊泡组成,线粒体呈圆形或椭圆形,双层膜结构明显,其基质电子密度增高,嵴的数量增多,与高尔基体共同形成一个“高尔基体-线粒体区”(图版 I:5);核内染色质呈絮状均匀分布,电子密度较精原细胞期要高(图版 I:6)。

2.3 次级精母细胞 次级精母细胞由初级精母细胞经过第一次减数分裂而成,近圆形,细胞间通过细胞质间桥连接(图版 I:7),胞体明显比初级精母细胞小,平均大小为 $6.81\ \mu\text{m} \times 5.75\ \mu\text{m}$,细胞核呈圆形,核平均大小为 $4.86\ \mu\text{m} \times 4.61\ \mu\text{m}$ (图版 I:7);细胞质中“高尔基体-线粒体”区仍然存在,线粒体呈椭圆形,嵴继续增加,呈层状(图版 I:8);核内染色质呈絮块状,主要沿核膜内侧分布(图版 I:7,9)。

2.4 精细胞 次级精母细胞经过第二次减数分裂形成精细胞,根据细胞核形状的不同以及

核内染色质形态的不同,将精细胞分为 I 期、II 期、III 期、IV 期和 V 期 5 个时期。

2.4.1 精细胞 I 期 I 期精细胞近圆形,平均大小为 $5.56\ \mu\text{m} \times 5.35\ \mu\text{m}$,细胞核呈圆形或椭圆形(图版 I:10),核平均大小为 $4.74\ \mu\text{m} \times 4.16\ \mu\text{m}$,染色质絮块状,呈网状分布(图版 I:10,11),在细胞核的一侧,出现了一个圆形的顶体囊,紧贴或稍向核膜内陷,直径 $1.02\ \mu\text{m}$,顶体囊内含物为均匀分布的颗粒物质,旁边可见发达的高尔基体(图版 I:12)。

2.4.2 精细胞 II 期 II 期精细胞核内染色质由絮块状逐渐转变为致密的细颗粒状,根据细胞核形态的不同又可分为前期和后期。前期细胞核近圆形,核平均大小为 $4.34\ \mu\text{m} \times 4.09\ \mu\text{m}$,顶体囊仍呈圆形,向核内陷加深,内含物仍为均匀的颗粒物质,电子密度较细胞核低(图版 II:1,2),在与顶体囊相对的细胞核另一侧,可见 6~8 个发达的线粒体聚集(图版 II:3);后期细胞核往纵向略拉长,呈不规则的椭圆形,核平均大小为 $4.53\ \mu\text{m} \times 3.88\ \mu\text{m}$,顶体囊变扁呈头盔形,长 $0.62\ \mu\text{m}$,内含物仍为颗粒物质,但电子密度比前期低(图版 II:4,5),在与顶体囊相对的细胞核另一侧,细胞核向内凹陷形成核后窝,线粒体集中在核后窝附近(图版 II:4,6)。

2.4.3 精细胞 III 期 精细胞继续拉长,核呈不规则的纺锤形,核平均大小为 $5.26\ \mu\text{m} \times 3.24\ \mu\text{m}$,核内染色质转变为细纤维状,与细胞核的纵轴平行,长约 $220\ \text{nm}$,直径约 $30\ \text{nm}$ (图版 II:7,8);头盔形的顶体囊拉长,且顶部变尖,转变为圆锥形的前顶体,长 $1.26\ \mu\text{m}$,其内含物为电子密度较高的板状物,并出现一个电子密度较低的顶上光亮区,亚顶体腔呈倒扣的“碗”状,凹入前顶体深 $0.31\ \mu\text{m}$ (图版 II:9);核后窝内鞭毛已经形成,由质膜和“9+2”结构的轴丝构成,中段横切面可见 9~10 个大小不等的线粒体分散在线粒体距中,线粒体呈椭圆形,内嵴清晰可见(图版 II:10,11);在核膜外侧,核周微管出现,均匀分布在细胞核的四周(图版 II:12)。

2.4.4 精细胞Ⅳ期 精细胞更进一步拉长,核呈长柱状纺锤形(图版Ⅲ:1),核平均大小为 $5.53\ \mu\text{m} \times 2.04\ \mu\text{m}$,核内染色质呈粗纤维状,长约 $240\ \text{nm}$,直径约 $60\ \text{nm}$,粗纤维状染色质是由细纤维状的染色质通过横向融合而成(图版Ⅲ:2,3);前顶体呈倒“U”字形,长 $1.47\ \mu\text{m}$,宽 $0.66\ \mu\text{m}$,顶上光亮区仍存在,且面积增大,亚顶体腔呈“ $\cap$ ”形,凹入前顶体深度 $0.37\ \mu\text{m}$,宽 $0.27\ \mu\text{m}$ (图版Ⅲ:4);尾部可见 $8 \sim 10$ 个正在融合的线粒体(图版Ⅲ:5,6)。

2.4.5 精细胞Ⅴ期 Ⅴ期精细胞核呈长柱状纺锤形(图版Ⅲ:7),核平均大小为 $5.55\ \mu\text{m} \times 1.66\ \mu\text{m}$,核内染色质呈片层状,由粗纤维状的染色质进一步融合而成,核膜内侧一周分布较多,核中间分布较少,核外周有紧密排列的核周微管(图版Ⅲ:8,9);此时,前顶体已接近成熟顶体,长 $1.58\ \mu\text{m}$,宽 $0.71\ \mu\text{m}$,亚顶体腔呈“ $\cap$ ”形,凹入顶体深度 $0.43\ \mu\text{m}$,宽 $0.67\ \mu\text{m}$ (图版Ⅲ:10);中段横切可见 $6 \sim 8$ 个大小不同的线粒体位于线粒体距(spur),逐渐向鞭毛附近靠拢(图版Ⅲ:11,12)。

2.5 成熟精子 拟目乌贼成熟精子全长 $101.28\ \mu\text{m}$,由头部和尾部两部分组成(图版Ⅳ:1,2)。

2.5.1 头部 头部呈长辣椒状,长 $7.73\ \mu\text{m}$,宽 $1.59\ \mu\text{m}$,由顶体和细胞核组成(图版Ⅳ:3)。顶体呈子弹头形,长 $1.71\ \mu\text{m}$,最宽处为 $0.91\ \mu\text{m}$,横切面近圆形,内含物为板状物质,有一个顶上光亮区,亚顶体腔呈“ $\cap$ ”形,内含物呈絮状,电子密度低,凹入顶体深度 $0.53\ \mu\text{m}$,宽 $0.31\ \mu\text{m}$ (图版Ⅳ:4~7);细胞核呈稍弯曲的长柱形,长 $5.75\ \mu\text{m}$,宽 $1.53\ \mu\text{m}$,核内染色质呈高电子密度均质状,横切面呈圆形,可见裙边状的质膜包围细胞核,核周微管消失(图版Ⅳ:8)。

2.5.2 尾部 尾部细长,为 $93.55\ \mu\text{m}$,可分为中段、主段和末段三部分。中段较短(图版Ⅳ:9),由线粒体距和鞭毛组成,线粒体距呈套筒状,前段完全包围鞭毛,横切面可见6个线粒体呈月牙形紧密排列(图版Ⅳ:10),后段不完

全包围鞭毛,横切面可见5个线粒体呈月牙形紧密排列(图版Ⅳ:11),线粒体大小相近,内嵴丰富,呈椭圆形,与轴丝平行排列,鞭毛由轴丝和质膜组成,直径 $0.31\ \mu\text{m}$,轴丝为典型的“ $9+2$ ”结构;主段即鞭毛,较长(图版Ⅳ:12,13);末段鞭毛逐渐变细,直径 $0.16\ \mu\text{m}$,由单一微管和质膜组成(图版Ⅳ:14,15)。

3 讨论

3.1 细胞核的形态建成 拟目乌贼成熟精子的细胞核呈稍弯曲的长柱形,与乌贼(Martínez-Soler et al. 2007)、曼氏无针乌贼(叶素兰等 2008)、金乌贼(刘长琳等 2011)等类似,但旋壳乌贼(Healy 1990a)、嘉庚蛸(Zhu et al. 2005,竺俊全等 2006)、短蛸(*Octopus ocellatus*)(Yang et al. 2011)、珀耳塞面蛸(Healy 1993)等的精子细胞核呈直的长柱形或杆状;爱尔斗蛸(*Eledone moschata*)(Selmi 1996)和尖盘爱尔斗蛸(Maxwell 1974, Selmi 1996)等的精子细胞核呈螺旋形。Martínez-Soler等(2007)和叶素兰等(2008)认为精子细胞核的弯曲与核周微管的分布不均有关,微管分布密集的一面形成精子的平直面(腹面),微管相对稀少的一面形成精子的凸面(背面),而本研究发现拟目乌贼精子细胞核虽弯曲,但核周微管分布均匀,核的平直面和凸面核周微管并无密集和稀少之分。Healy(1990a)认为直的细胞核比弯曲的细胞核在进化地位上更为高等,因此可以认为拟目乌贼精子在头足类中进化地位相对较为低等。拟目乌贼精子发生过程中,细胞核经历了一个横向收缩、纵向拉长的过程,形状由圆形或椭圆形变为不规则的纺锤形,最后变为稍弯曲的长柱形,这与乌贼(Martínez-Soler et al. 2007)、曼氏无针乌贼(叶素兰等 2008)等的精子细胞核形态建成模式类似,而Maxwell(1975)研究发现欧洲横纹乌贼(*Eusepia officinalis*)、福氏枪乌贼和锥异尾枪乌贼(*Alloteuthis subulata*)精子发生过程中,细胞核只经历横向收缩而未经纵向拉长,可见精子细胞核的形态和建成具有种属差异性。

精子细胞核形态的建成与染色质的凝集和核周微管的作用有关。拟目乌贼精子发生过程中,核内染色质由絮状,变为絮块状、致密颗粒状、细纤维状、粗纤维状和片层状,最终变为高电子密度均质状,这与乌贼 (Martínez-Soler et al. 2007)、旋壳乌贼 (Healy 1990a)、巨粒僧头乌贼 (Hou et al. 1992)、嘉庚蛸 (竺俊全等 2006)、尖盘爱尔斗蛸 (Maxwell 1974) 和真蛸 (Ribes et al. 2004) 等的染色质浓缩模式类似,而与曼氏无针乌贼 (叶素兰等 2008)、欧洲横纹乌贼、福氏枪乌贼、锥异尾枪乌贼 (Maxwell 1975) 等不同,后者只经历了颗粒化和纤维化,而未经片层化。本研究发现,染色质的颗粒化对细胞核的形态没有重要影响,细胞核形态出现明显变化是在染色质发生纤维化以及纤维相互融合的过程中,这与 Martínez-Soler 等 (2007) 认为染色质的颗粒化是染色质浓缩必不可少的一步,而纤维化对细胞核的形态建成有直接影响的观点类似。核周微管在精细胞Ⅲ期出现,伴随着染色质的纤维化,同时细胞核出现明显的横向收缩和纵向拉长,继而纤维开始相互融合,我们认为,核周微管的出现促使染色质的纤维化和纤维的相互融合,两者的共同作用促使细胞核的横向收缩和纵向拉长,拟目乌贼精子细胞核形态的建成是核周微管和染色质融合协同作用的结果。

3.2 顶体的演变 顶体位于精子的最前端,其内含有多种与受精相关的酶,顶体的形态与受精能力密切相关 (Oflaherty et al. 2004)。拟目乌贼精子顶体的形成经历了圆形和头盔形的顶体囊、圆锥形和倒“U”字形的前顶体,最终演变为子弹头形的成熟顶体,内含物由颗粒物质变为板状物,并形成一个顶上光亮区。与本研究不同,曼氏无针乌贼 (叶素兰等 2008) 精子具有三角形和不等边四边形的前顶体,形成圆屋顶形 (即“ $\cap$ ”字形) 的成熟顶体,顶上光亮区和板状内含物不存在于成熟顶体中;旋壳乌贼 (Healy 1990a)、真蛸 (Ribes et al. 2004)、珀耳塞面蛸 (Healy 1993) 精子顶体的形成未经历倒“U”字形的前顶体,而由圆锥形的前顶体进

一步拉长,最终演变为长锥形的成熟顶体,其上具间隔等距的横纹,保留顶上光亮区和板状内含物;短蛸 (Yang et al. 2011) 和尖盘爱尔斗蛸 (Maxwell 1974) 顶体的演变更为复杂,圆锥形的前顶体拉长并螺旋化,形成螺旋形的成熟顶体,保留顶上光亮区和板状内含物。Healy (1990a) 认为具有顶上光亮区和板状内含物的顶体比圆屋顶形顶体更为进化,我们认为,拟目乌贼精子子弹头形顶体的进化地位介于圆屋顶形和长锥形之间。

关于头足类精子顶体的形成,多数学者认为是由高尔基体囊泡积累致密物及融合发育而来,竺俊全等 (2006) 认为内质网可能与嘉庚蛸精子顶体物质的合成和包装有关,在本研究中,顶体囊出现在精细胞Ⅰ期,其周围有大量发达的高尔基体,未发现内质网的存在,因此可以认为拟目乌贼精子的顶体是由高尔基体发育而来。

3.3 线粒体的变化 线粒体是精子能量供应的中心场所,随着精子的发生,其形态、数目、大小以及分布均发生一定变化,这与不同发育阶段生精细胞对能量需求不同相适应。拟目乌贼精子发生过程中,线粒体由空泡状变为内嵴丰富的球状,数目经历由少到多又到少,体积逐渐增大,由分散在细胞质中逐渐向核后端聚集,并出现融合,精子形成后,中段横切面有 5~6 个线粒体,与尾部轴丝平行排列,形成不完全包围鞭毛的线粒体距,这与曼氏无针乌贼 (叶素兰等 2008)、欧洲横纹乌贼、福氏枪乌贼和锥异尾枪乌贼 (Maxwell 1975) 类似,但巨粒僧头乌贼 (Hou et al. 1992) 和旋壳乌贼 (Healy 1990a) 等形成完全包围鞭毛的线粒体袖套 (sleeve),线粒体排列松散且不与轴丝平行,嘉庚蛸 (竺俊全等 2006)、爱尔斗蛸 (Selmi 1996) 和尖盘爱尔斗蛸 (Maxwell 1974, Selmi 1996) 等形成完全包围鞭毛的线粒体鞘 (sheath),线粒体排列紧密且与轴丝平行。竺俊全等 (2006) 认为线粒体鞘能够提供更多的能量,这是精子对体内受精方式的适应,Healy (1990a) 认为线粒体袖套是由线粒体距发展而来的。我们认为,线

粒体距与体外受精的方式是相对应的,这与 Wada 等 (2010) 认为拟目乌贼是体外受精的观点相符,也可以说明拟目乌贼在头足类中的进化地位较为低等。

参 考 文 献

- Arnold J M. 1978. Spermiogenesis in *Nautilus pompilius*. II. Sertoli cell-spermatid junctional complexes. The Anatomical Record, 191(2): 261–268.
- Healy J M. 1990a. Ultrastructure of Spermatozoa and Spermiogenesis in *Spirula spirula* (L.): systematic importance and comparison with other cephalopods. Helgoländer Meeresuntersuchungen, 44(1): 109–123.
- Healy J M. 1990b. Ultrastructure of Spermiogenesis in *Vampyroteuthis infernalis* Chun—a relict cephalopod mollusk. Helgoländer Meeresuntersuchungen, 44(1): 95–107.
- Healy J M. 1993. Sperm and spermiogenesis in *Opisthoteuthis Persephone* (Octopoda: Cirrata): Ultrastructure, comparison with other cephalopods and evolutionary significance. Journal of Molluscan Studies, 59(1): 105–115.
- Hou S T, Maxwell W L. 1992. Evidence for an intermediate type of Spermatozoon: Ultrastructural studies of Spermiogenesis in the cuttlefish *Rossia macrosoma* (Cephalopoda, Decabrachia). Zoomorphology, 112(4): 207–215.
- Kikkawa T, Watanabe Y, Katayama Y, et al. 2008. Acute CO₂ tolerance limits of juveniles of three marine invertebrates, *Sepia lycidas*, *Sepioteuthis lessoniana*, and *Marsupenaeus japonicus*. Plankton and Benthos Research, 3(3): 184–187.
- Lucky N S, Ihara R, Yamaoka K, et al. 2012. Behavioral laterality and morphological asymmetry in the cuttlefish, *Sepia lycidas*. Zoological Science, 29(5): 286–292.
- Martínez-Soler F, Kurtz K, Chiva M. 2007. Sperm Nucleomorphogenesis in the cephalopod *Sepia officinalis*. Tissue and Cell, 39(2): 99–108.
- Maxwell W L. 1974. Spermiogenesis of *Eledone cirrhosa* Lamarck (Cephalopoda, Octopoda). Proceedings of the Royal Society of London-Biological Sciences, 186(1083): 181–190.
- Maxwell W L. 1975. Spermiogenesis of *Eusepia officinalis* (L.), *Loligo forbesi* (Steenstrup) and *Alloteuthis subulata* (L.) (Cephalopoda, Decapoda). Proceedings of the Royal Society of London-Biological Sciences, 191(1105): 527–535.
- Nagai T, Yamashita E, Taniguchi K, et al. 2001. Isolation and characterisation of collagen from the outer skin waste material of cuttlefish (*Sepia lycidas*). Food Chemistry, 72(4): 425–429.
- Offahertv C, Rodriguez P, Srivastava S. 2004. L-arginine promotes capacitation and acrosome reaction in cryopreserved bovine spermatozoa. Biochimica et Biophys Acta (BBA): General Subjects, 1674(2): 215–221.
- Ribes E, Giménez-Bonafé P, Martínez-Soler F, et al. 2004. Chromatin organization during spermiogenesis in *Octopus vulgaris*. I: Morphological Structures. Molecular Reproduction and Development, 68(2): 223–231.
- Selmi M G. 1996. Spermatozoa of two *Eledone* species (Cephalopoda, Octopoda). Tissue and Cell, 28(5): 613–620.
- Wada T, Takegaki T, Mori T, et al. 2010. Sperm removal, ejaculation and their behavioural interaction in male cuttlefish in response to female mating history. Animal Behaviour, 79(3): 613–619.
- Yang J M, Wang W J, Zheng X D, et al. 2011. The ultrastructure of the spermatozoon of *Octopus ocellatus* Gray, 1849 (Cephalopoda: Octopoda). Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 29(1): 199–205.
- Zhu J Q, Yang W X, You Z J, et al. 2005. The ultrastructure of the spermatozoon of *Octopus tankahkei*. Journal of Shellfish Research, 24(4): 1203–1207.
- 蔡文飞, 徐海红, 陈道海. 2012. 温度对拟目乌贼幼体日生长率和存活率的影响. 氨基酸和生物资源, 34(4): 63–66.
- 陈新军, 刘必林, 王尧耕. 2009. 世界头足类. 北京: 海洋出版社, 440–441.
- 蒋霞敏, 彭瑞冰, 罗江, 等. 2012. 野生拟目乌贼不同组织营养成分分析及评价. 动物营养学报, 24(12): 2393–2401.
- 焦海峰, 尤中杰, 竺俊全. 2004. 软体动物精子的超微结构及其分类学意义. 宁波大学学报: 理工版, 17(4): 414–418.
- 刘长琳, 邹健, 刘君刚, 等. 2011. 金乌贼精子的超微结构. 渔业科学进展, 32(3): 1–6.
- 文善, 江星, 王雁, 等. 2012. 拟目乌贼繁殖行为学的初步研究. 水产科学, 31(1): 22–27.
- 徐海红, 蔡文飞, 周淑进, 等. 2012. 拟目乌贼幼体日摄食量及其对体重影响. 氨基酸和生物资源, 34(4): 67–70.
- 叶素兰, 吴常文, 吴志平. 2008. 曼氏无针乌贼 (*Sepiella maindroni*) 精子形成的超微结构. 海洋与湖沼, 39(3): 269–275.
- 竺俊全, 杨万喜, 尤中杰, 等. 2006. 嘉庚蛸精子发生的超微结构. 水产学报, 30(2): 161–169.

图版 I 说明

拟目乌贼的精子发生

1. 精原细胞,示细胞核,×12 000; 2. 图 1 放大,示空泡状线粒体,×20 000; 3. 图 1 放大,示絮状染色质,×20 000; 4. 初级精母细胞,示细胞核,×20 000; 5. 图 4 放大,示线粒体和典型高尔基体,×80 000; 6. 图 4 放大,示絮状染色质,×30 000; 7. 次级精母细胞,示细胞核和细胞质间桥,×2 000; 8. 图 7 放大,示线粒体和高尔基体,×60 000; 9. 图 7 放大,示沿核分部的絮块状染色质,×40 000; 10. 精细胞 I 期,示细胞核和顶体囊,×20 000; 11. 图 10 放大,示网状分布的染色质,×30 000; 12. 精细胞 I 期,示圆形顶体囊和高尔基体,×80 000。

Explanation of Plate I

Spermatogenesis of *Sepia lycidas*

1. Spermatogonium, showing the nucleus, ×12 000; 2. Magnification of Fig. 1, showing the vacuole-shaped mitochondria, ×20 000; 3. Magnification of Fig. 1, showing the flocculent chromatin, ×20 000; 4. Primary spermatocyte, showing the nucleus, ×20 000; 5. Magnification of Fig. 4, showing the mitochondria and typical Golgi apparatus, ×80 000; 6. Magnification of Fig. 4, showing the flocculent chromatin, ×30 000; 7. Secondary spermatocyte, showing the nucleus and the cytoplasmic bridge, ×2 000; 8. Magnification of Fig. 7, showing the mitochondria and Golgi apparatus, ×60 000; 9. Magnification of Fig. 7, showing the block flocculent chromatin distribute along the nucleus envelope, ×40 000; 10. Spermatid I, showing the nucleus and round acrosomal vesicle, ×20 000; 11. Magnification of Fig. 10, showing the reticulate chromatin, ×30 000; 12. Spermatid I, showing the round acrosomal vesicle and Golgi apparatus, ×80 000.

图版 II 说明

拟目乌贼的精子发生

1. 精细胞 II 期前期,示细胞核和顶体囊,×25 000; 2. 图 1 放大,示圆形顶体囊,×70 000; 3. 精细胞 II 期前期,示线粒体聚集和颗粒状染色质,×60 000; 4. 精细胞 II 期后期,示细胞核、核后窝和顶体囊,×20 000; 5. 图 4 放大,示头盔形顶体囊,×80 000; 6. 图 4 放大,示线粒体和颗粒状染色质,×50 000; 7. 精细胞 III 期,示不规则纺锤形细胞核和前顶体,×20 000; 8. 精细胞 III 期,示细纤维状染色质,×60 000; 9. 图 7 放大,示圆锥形前顶体和“碗状”亚顶体腔,×60 000; 10. 图 7 放大,示线粒体和轴丝,×50 000; 11. 细胞 III 期,中段横切,示轴丝和线粒体,×30 000; 12. 精细胞 III 期,细胞核横切,示核周微管,×12 000。

Explanation of Plate II

Spermatogenesis of *Sepia lycidas*

1. Early period of spermatid II, showing the nucleus and acrosomal vesicle, ×25 000; 2. Magnification of Fig. 1, showing the round acrosomal vesicle, ×70 000; 3. Early period of spermatid II, showing the gathering mitochondria and graininess chromatin, ×60 000; 4. Late period of spermatid II, showing the irregular oval nucleus, posterior nucleus fossa, and acrosomal vesicle, ×20 000; 5. Magnification of Fig. 4, showing the helmet-shaped acrosomal vesicle, ×80 000; 6. Magnification of Fig. 4, showing the mitochondria and graininess chromatin, ×50 000; 7. Spermatid III, showing the irregular spindle-like nucleus, and conical proacrosome, ×20 000; 8. Spermatid III, showing the fine fibrous chromatin, ×60 000; 9. Magnification of Fig. 7, showing the conical proacrosome and “bowl shaped” subacrosome, ×60 000; 10. Magnification of Fig. 7, showing the mitochondria and axoneme, ×50 000; 11. Spermatid III, transverse section of the middle piece, showing the axoneme and the mitochondria with abundant cristae, ×30 000; 12. Spermatid III, transverse section of the nucleus, showing the peri-nuclear microtubules, ×12 000.

图版 III 说明

拟目乌贼的精子发生

1. 精细胞 IV 期,示长柱状纺锤形细胞核,×15 000; 2. 精细胞 IV 期,细胞核后端横切,示鞭毛和粗纤维状染色质,×40 000; 3. 精细胞 IV 期,示粗纤维状染色质,×70 000; 4. 图 1 放大,示倒“U”字形前顶体和“∩”形亚顶体腔,×60 000; 5. 精细胞 IV 期,尾部纵切,示正在融合的线粒体,×60 000; 6. 精细胞 IV 期,中段横切示正在融合的线粒体,×50 000; 7. 精细胞 V 期,示纺锤形细胞核,×20 000; 8. 精细胞 V 期,细胞核横切,示片层状染色质,×70 000; 9. 精细胞 V 期,示片层状染色质,×70 000; 10. 图 7 放大,示倒

“U”字形前顶体和“∩”形亚顶体腔, ×40 000; 11. 精细胞 V 期, 尾部纵切, 示线粒体, ×50 000; 12. 精细胞 V 期, 中段横切, 示线粒体和轴丝, ×70 000。

Explanation of Plate III

Spermatogenesis of *Sepia lycidas*

1. Spermatid IV, showing the long spindle-like nucleus, ×15 000; 2. Spermatid IV, transverse section of the poerior nucleus, showing the flagellum and coarse fibre, ×40 000; 3. Spermatid IV, showing the coarse fibrous chromatin, ×70 000; 4. Magnification of Fig. 1, showing the backward “U” shaped proacrosome and “∩” shaped subacrosome, ×60 000; 5. Spermatid IV, longitudinal section of the tail, showing the fusing mitochondria, ×60 000; 6. Spermatid IV, transverse section of the middle piece, showing the fusing mitochondria, ×50 000; 7. Spermatid V, showing the spindle-like nucleus, ×20 000; 8. Spermatid V, transverse section of the nucleus, showing the lamellar chromatin, ×70 000; 9. Spermatid V, showing the lamellar – like chromatin, ×70 000; 10. Magnification of Fig. 7, showing the backward “U” shaped proacrosome and calyptriform subacrosome, ×40 000; 11. Spermatid V, longitudinal section of the tail, showing the mitochondria, ×50 000; 12. Spermatid V, transverse section of the middle piece, showing the axoneme and the mitochondria, ×70 000.

图版 IV 说明

拟目乌贼精子的超微结构

1. 扫描电镜照片, 成熟精子, 示头部和尾部, ×1 400; 2. 图 1 放大, 示顶体、细胞核和中段, ×6 000; 3. 成熟精子纵切, 示稍弯曲的长柱状细胞核, ×15 000; 4. 成熟精子, 示子弹头形顶体和“∩”字形亚顶体腔, ×30 000; 5. 成熟精子, 顶体横切, 示顶体, ×80 000; 6. 成熟精子, 顶体横切, 示顶体和亚顶体腔, ×80 000; 7. 成熟精子, 顶体横切, 示顶体、亚顶体腔和细胞核, ×80 000; 8. 成熟精子, 细胞核横切, 示细胞核和裙边状质膜, ×70 000; 9. 成熟精子, 中段纵切, 示线粒体距、线粒体和鞭毛, ×40 000; 10. 成熟精子, 中段前段横切, 示线粒体距和轴丝, ×100 000; 11. 成熟精子, 中段后段横切, 示线粒体距和轴丝, ×100 000; 12. 成熟精子, 主段纵切, ×60 000; 13. 成熟精子, 主段横切, 示“9 + 2”结构轴丝和质膜, ×100 000; 14. 成熟精子, 末段纵切, ×60 000; 15. 成熟精子, 末段横切, ×120 000。

Explanation of Plate IV

Ultrastructure of Spermatozoa in *Sepia lycidas*

1. SEM Fig., mature spermatozoon, showing the head and tail, ×1 400; 2. Magnification of Fig. 1, showing the acrosome, nucleus and middle piece, ×6 000; 3. Longitudinal section the a mature spermatozoon, showing the slightly curved long columnar nucleus, ×15 000; 4. Mature spermatozoon, showing the bullet train-like acrosome and “∩” shaped subacrosome, ×30 000; 5. Mature spermatozoon, transverse section of the acrosome, showing the acrosome, ×80 000; 6. Mature spermatozoon, transverse section of the acrosome, showing the acrosome and subacrosome, ×80 000; 7. Mature spermatozoon, transverse section of the acrosome, showing the acrosome, subacrosome and nucleus, ×80 000; 8. Mature spermatozoon, transverse section of the nucleus, showing the nucleus and skirt membrane, ×70 000; 9. Mature spermatozoon, longitudinal section of the middle piece, showing the mitochondrial spur, mitochondria, and flagellum, ×40 000; 10. Mature spermatozoon, transverse section of the anterior middle piece, showing the mitochondrial spur and axoneme, ×100 000; 11. Mature spermatozoon, transverse section of the posterior middle piece, showing the mitochondrial spur and axoneme, ×100 000; 12. Mature spermatozoon, longitudinal section of the principal piece, ×60 000; 13. Mature spermatozoon, transverse section of the principal piece, showing the axoneme with a “9 + 2” structure and plasma membrane, ×100 000; 14. Mature spermatozoon, longitudinal section of the end piece, ×60 000; 15. Mature spermatozoon, transverse section of the end piece, ×120 000.

A. 顶体; Av. 顶体囊; Ax. 轴丝; Cb. 细胞质间桥; Ch. 染色质; F. 鞭毛; G. 高尔基体; H. 头部; M. 线粒体; Mp. 中段; Ms. 线粒体距; Mt. 微管; N. 细胞核; Pa. 前顶体; Pm. 质膜; Pnf. 核后窝; Sb. 亚顶体腔; Sm. 裙边状质膜; T. 尾部。

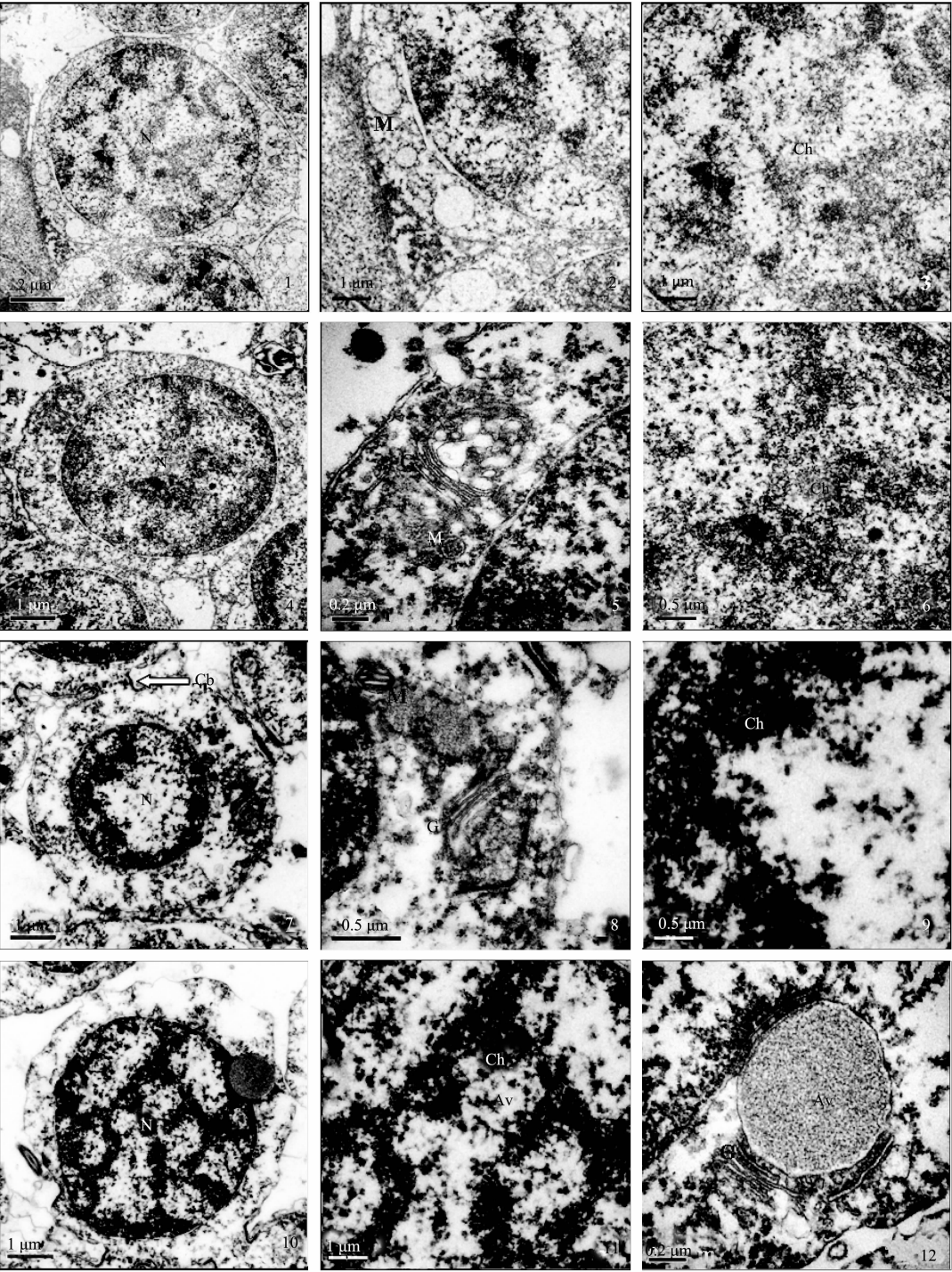
A. Acrosome; Av. Acrosomal vesicle; Ax. Axoneme; Cb. Cytoplasm bridge; Ch. Chromatin; F. Flagellum; G. Golgi apparatus; H. Head; M. Mitochondria; Mp. Middle piece; Ms. Mitochondrial spur; Mt. Microtubule; N. Nucleus; Pa. Proacrosome; Pm. Plasma membrane; Pnf. Posterior nucleus fossa; Sb. Subacrosomal fossa; Sm. Skirt membrane; T. Tail.

罗 江等:拟目乌贼精子发生和精子的超微结构

图版 I

LUO Jiang *et al.*: Ultrastructure of Spermatogenesis and Mature Spermatozoa in *Sepia lycidas*

Plate I



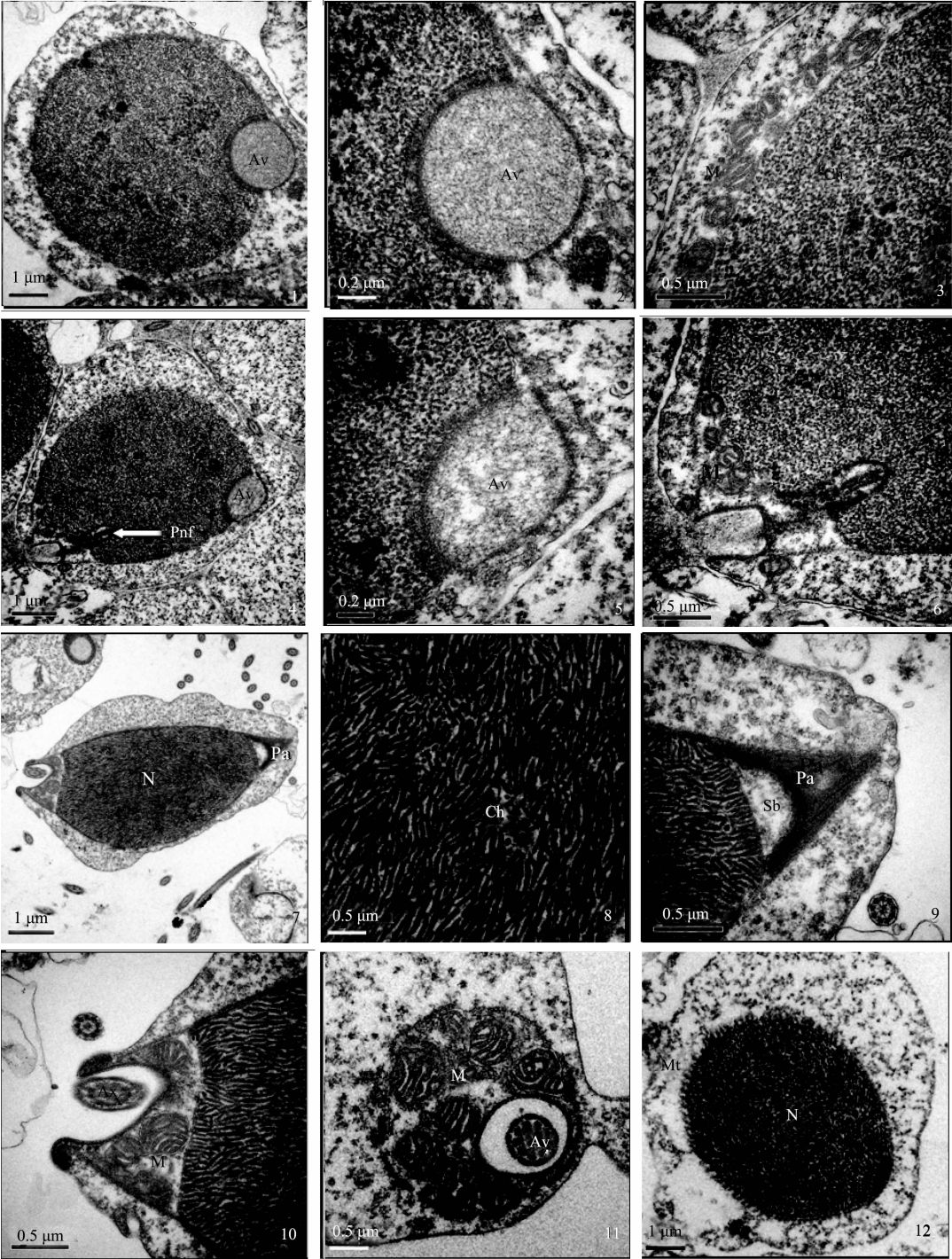
图版说明见文后

罗 江等:拟目乌贼精子发生和精子的超微结构

图版 II

LUO Jiang *et al.*: Ultrastructure of Spermatogenesis and Mature Spermatozoa in *Sepia lycidas*

Plate II



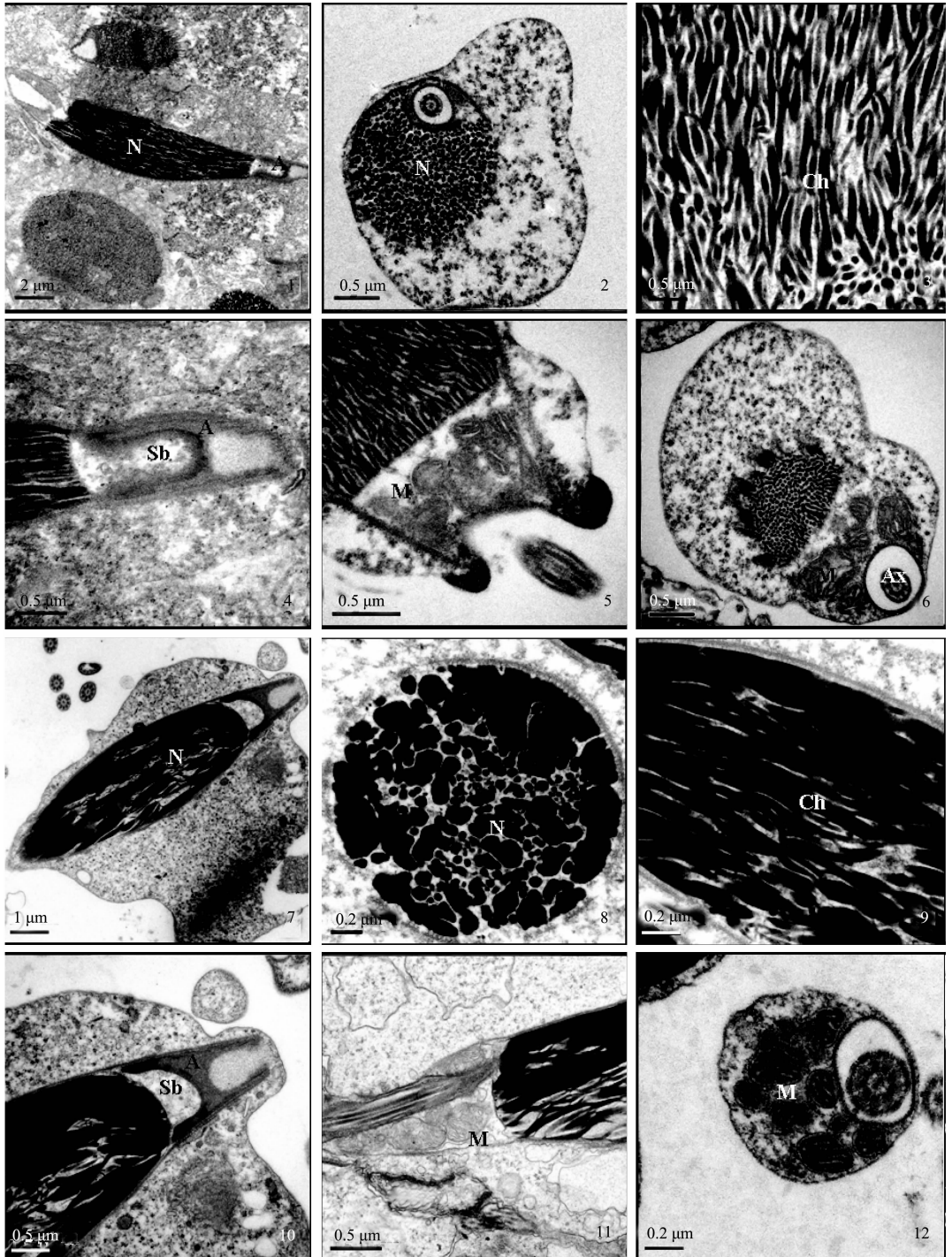
图版说明见文后

罗 江等:拟目乌贼精子发生和精子的超微结构

图版 III

LUO Jiang *et al.*: Ultrastructure of Spermatogenesis and Mature Spermatozoa in *Sepia lycidas*

Plate III



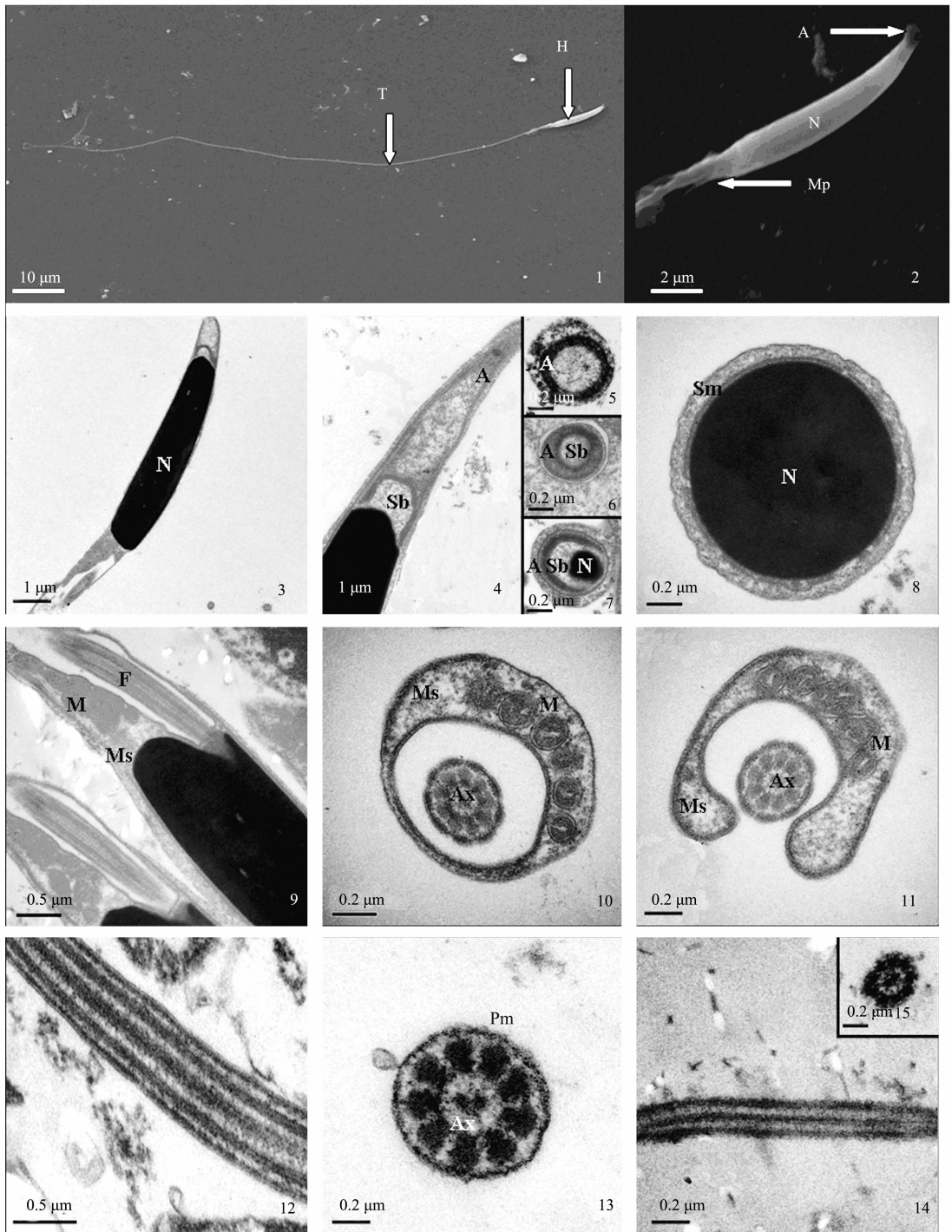
图版说明见文后

罗 江等:拟目乌贼精子发生和精子的超微结构

图版IV

LUO Jiang *et al.*: Ultrastructure of Spermatogenesis and Mature Spermatozoa in *Sepia lycidas*

Plate IV



图版说明见文后