



孙媛, 曾瑶, 闫宝佐, 等. 有轮瑞利绦虫(圆叶目:戴维科)精子的超微结构[J]. 华南农业大学学报, 2017, 38(4): 57-61.

有轮瑞利绦虫(圆叶目:戴维科)精子的超微结构

孙媛, 曾瑶, 闫宝佐, 李海云
(华南农业大学 动物科学学院, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】构建有轮瑞利绦虫 *Railletina cesticillus* 精子的超微结构示意图。【方法】利用透射电镜技术,对寄生于鸡消化道的有轮瑞利绦虫的精子形态和结构特征进行观察。【结果】有轮瑞利绦虫的精子呈丝状,两端渐尖,具有冠状体,无线粒体,具有“9+1”类型的轴丝。精子从头至尾可划分为5区:I区,头部,具冠状体;II区,皮层微管明显,围轴鞘和蛋白质样横隔壁出现;III区,大量电子致密颗粒出现;IV区,细胞核出现;V区,尾部,轴丝游离。有轮瑞利绦虫和棘槽瑞利绦虫 *R. echinobothrida* 的精子具有1个冠状体,其他6种已报道的戴维科绦虫的精子均有2个冠状体;而有轮瑞利绦虫和棘槽瑞利绦虫精子冠状体的旋转角度不同,分别是40°~55°和35°。【结论】精子头部冠状体的数目和旋转角度可以将有轮瑞利绦虫和其他7种戴维科绦虫区分开来。

关键词:有轮瑞利绦虫; 精子; 超微结构; 透射电镜; 冠状体
中图分类号:Q954.61 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-411X(2017)04-0057-05

Ultrastructure of spermatozoon of *Railletina cesticillus* (Cyclophyllidea: Davaineidae)

SUN Yuan, ZENG Yao, YAN Baozuo, LI Haiyun
(College of Animal Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract:【Objective】To illustrate the ultrastructure of the spermatozoon of *Railletina cesticillus*. 【Method】Transmission electron microscope was used to observe the morphorlogy and structure of the spermatozoon of *R. cesticillus* parasitized in chicken intestine. 【Result】The spermatozoon of *R. cesticillus* is filiform, tapers at both ends, has crested-like body and lacks the mitochondria. It has axonemes with the “9+1” pattern. Based on longitudinal sections of *R. cesticillus* spermatozoon, five regions could be distinguished. Region I corresponds to the anterior extremity of the spermatozoon, having a crested-like body. Region II is characterized by the presence of cortical microtubules, a periaxonemal sheath and intracytoplasmic walls. Region III has plenty of electro-dense granules. Region IV is characterized by the presence of the nucleus. Region V corresponds to the posterior end of the spermatozoon, having free flagellums. The spermatozoons of *R. cesticillus* and *R. echinobothrida* each has one crested-like body, while the spermatozoons of all other six reported davaineid cestode each has two crested-like bodies. The rotation angle of the crested-like body of *R. cesticillus* is 40° to 55°, other than 35° for *R. echinobothrida*. 【Concluision】The number and rotation angle of the crested-like body of the spermatozoon head can descriminate *R. cesticillus* from other seven reported Davaineidae cestode.

收稿日期:2016-09-28 优先出版时间:2017-06-21
优先出版网址:<http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.s.20170621.1924.020.html>
作者简介:孙媛(1980—),女,讲师,博士,E-mail:sunyuan@scau.edu.cn;通信作者:李海云(1966—),女,教授,博士,
E-mail:hyli@scau.edu.cn
基金项目:国家自然科学基金(41106129);广东省自然科学基金(06025794)

Key words:*Raillietina cesticillus*; spermatozoon; ultrastructure; transmission electron microscope; cres-ted-like body

利用精子的形态结构和发生过程构建系统发生关系,在扁形动物系统学的研究中得到了广泛应用。Justine^[1-2]研究了11个目56种绦虫精子的结构和发生过程,归纳了真绦虫精子结构的共源性状,阐述了精子结构及其发生过程在绦虫系统学研究中的意义。Levron等^[3]利用62种绦虫精子的超微结构特征,分析了12个目绦虫的系统发生关系,详述了精子形态结构在绦虫分类学研究中的重要作用。截止到目前,已有100余种绦虫的精子的研究报道^[2-3],涉及到槽首目Bothriocephalidea,鲤蝨目Caryophyllidea,圆叶目Cyclophyllidea,二叶目Diphyllidea,裂头目Diphyllbothriidea,单槽目Haplobothriidea,日带目Nippotaeniidea,原头目Proteocephalidea,佛焰苞槽目Spathebothriidea,四槽目Tetrabothriidea,四叶目Tetraphyllidea和锥吻目Trypanorhyncha等绦虫。有轮瑞利绦虫*Raillietina cesticillus*隶属于圆叶目戴维科Davaineidae瑞利属*Raillietina*,主要寄生于鸟类消化道,常见宿主为鸡和火鸡。目前,国内外已报道5种瑞利属绦虫精子的完整结构,分别是比尔瑞利绦虫*R. baeri*^[4],棘槽瑞利绦虫*R. echinobothrida*^[5],微棘瑞利绦虫*R. micracantha*^[6],*R. tunetensis*^[7]和维纳哥瑞利绦虫*R. vinagoi*^[8]。本文从养殖鸡消化道中收集有轮瑞利绦虫,利用透射电镜对其精子结构进行研究,并和已有的戴维科绦虫精子结构进行比较分析,归纳总结戴维科绦虫精子超微结构的特点,旨在丰富绦虫精子形态特征数据,促进绦虫学相关研究的深入开展。

1 材料与方法

1.1 材料

有轮瑞利绦虫取自鸡肠道。鸡肠道于广州市长湴菜市场及广州市五山菜市场等地获得。将鸡肠道剖开,将有绦虫寄生者浸泡于自来水中,待虫体自然脱落后,用解剖针将其挑起,置于9 g · L⁻¹的生理盐水中冲洗干净备用。

1.2 透射电镜样品的制备

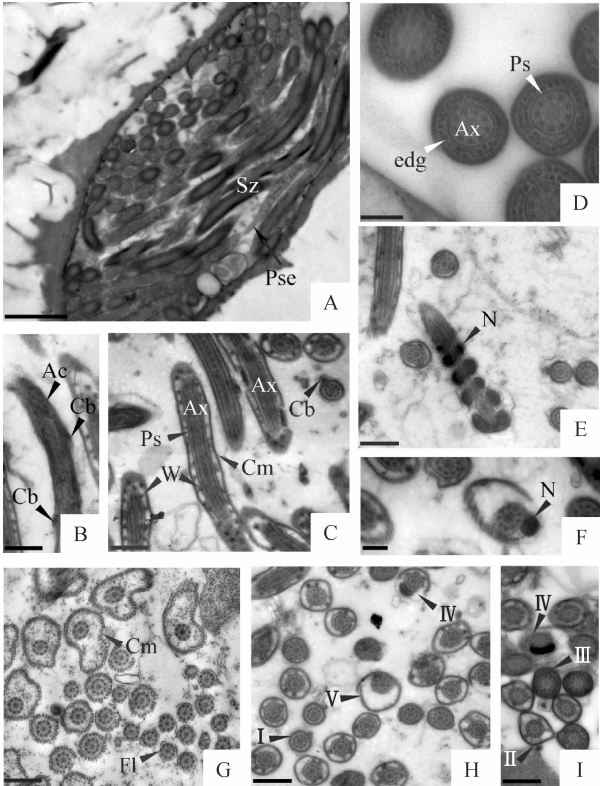
取所需的绦虫虫体片段,先用4℃的w为2.5%的戊二醛溶液固定4 h以上,再经4℃的w为1%的四氧化锇溶液固定1 h(戊二醛溶液和四氧化锇溶液都用pH 7.4的0.2 mol · L⁻¹磷酸缓冲液配制),双

<http://xuebao.scau.edu.cn>

固定后经0.1 mol · L⁻¹磷酸缓冲液漂洗6次,梯度酒精(φ为50%、70%、80%、90%、95%和100%)脱水,Epon812环氧树脂包埋,Leica UCT超薄切片机切片,切片厚90 nm,切片经醋酸铀和柠檬酸铅双重染色,TECNAI G2 12分析型透射电子显微镜观察并拍照。

2 结果与分析

透射电镜下,有轮瑞利绦虫的精巢近似圆形,其内充满大量成熟的线性精子(图1A)。精子呈现两端渐尖的丝状结构,整条精子均有质膜下皮层微管



Ac:顶锥, Ax:轴丝, Cm:皮层微管, Cb:冠状体, edg:电子致密颗粒, Fl:游离轴丝, Ps:围轴鞘, Pse:精子后端, Sz:精子, W:横隔壁, N:细胞核;A:精巢纵切面示精子、精子后端(标尺=2 μm);B: I区纵切面示精子顶锥和冠状体(标尺=0.5 μm);C: II区纵切面示轴丝、皮层微管、围轴鞘和蛋白质横隔壁(标尺=0.2 μm);D: III区横切面示高密度电子颗粒、皮层微管(标尺=0.2 μm);E: IV区纵切面示细胞核(标尺=0.5 μm);F: IV区横切面示细胞核(标尺=0.2 μm);G: V区横切面示皮层微管、游离轴丝(标尺=0.5 μm);H:精子横切面示I、IV、V区(标尺=0.5 μm);I:精子横切面示II、III、IV区(标尺=0.5 μm)。

图1 透射电镜下有轮瑞利绦虫的精子

Fig. 1 Transmission electron microscopy observation of *Raillietina cesticillus* spermatozoon

包围,前端存在1个绕在精子头部的冠状体,无线粒体,具有“9+1”类型的轴丝。轴丝由1根位于中央的微管和9对位于外周微管组成,中央微管由鞘膜套包绕,鞘膜套发出9条纤维细丝,与外周的9对微管相连,形成车轮状的微管系统。轴丝有围轴鞘包围,胞质含有电子致密颗粒和蛋白质样横隔壁结构,后者两端分别连接着围轴鞘和皮层微管。细胞核螺旋状缠绕轴丝。

根据精子微细结构特征的不同,可将精子从头至尾分成5区,其各区域的结构特征如下:

I区:直径约为250~350 nm,冠状体的存在标志着精子头部的位置。精子的顶端有1个形似帽子的顶锥连接着精子的头部(图1B)。精子头部后面紧接着出现1个冠状体缠绕在精子表面(图1B、1C),旋转角度为40°~55°,厚度约为100 nm,轴丝从精子头部区域开始延伸,此区域内没有围轴鞘。纵切面中,精子外层的皮层微管形成电子致密表层。横切面可见轴丝位于断面中央,为“9+1”模式(图1C、1H)。

II区:直径约为350~450 nm,冠状体消失,皮层微管明显,横切面呈明显螺旋排列在精子质膜下,开始出现围轴鞘包围轴丝(图1C)。胞质中有电子密度较低的颗粒且分布较均匀,在精子的这一区段出现了少量的蛋白质样横隔壁,间隔长短不一(图1C、1I)。这一区域精子的横切片形状存在一些差异,有圆形及不规则形状(图1I)。

III区:直径约为350~400 nm,切面可见精子外层的皮层微管明显增厚,螺旋形排列在外。精子横断面基本上都是圆形,轴丝位于横断面的中央。蛋白质样横隔壁将胞质均匀分成许多小室,其中充满

了大量的电子致密颗粒(图1D),蛋白质样横隔壁两端分别连接着围轴鞘和皮层微管(图1I)。

IV区:直径约为350 nm,此区域最明显的特征是出现了极高电子密度的细胞核。纵切面上,核呈不规则螺旋形缠绕着轴丝(图1E)。围轴鞘和蛋白质样横隔壁逐渐消失。根据其横切面的形状可以分为马蹄形、新月形以及椭圆形。斜切面可见轴丝偏向一边,同时皮层微管不完整(图1F、1H、1I)。

V区:直径小于350 nm,为精子的尾部(图1A)。皮层微管仍然螺旋排列在外,一些横切面上,轴丝偏向一边,而另一些横切面没有见到轴丝,胞质中的电子致密颗粒逐渐减少直至消失。还有一些横切面可见由不连续皮层微管包围的轴丝和完全裸露的轴丝(图1G)。纵切面可见轴丝逐渐从皮层微管中游离出来。因此可以推断精子轴丝在靠近精子尾端的过程中逐渐从胞质中偏移,从而使轴丝裸露出来。

根据各区段的超微结构特征,将有轮瑞利绦虫*R. cesticllus*精子与已报道的7种戴维科绦虫精子进行比较分析(表1),精子头部冠状体的数目和旋转角度可以将有轮瑞利绦虫和其他7种戴维科绦虫区分开来。除了有轮瑞利绦虫和棘槽瑞利绦虫*R. echinobothrida*具有1个冠状体以外,其他6种戴维科绦虫的精子均有2个冠状体;而有轮瑞利绦虫和棘槽瑞利绦虫*R. echinobothrida*在冠状体的旋转角度上不同,分别是40°~55°和35°。

以精子各组成部分的微细结构特征为基础,初步构建了有轮瑞利绦虫成熟精子的结构示意图(图2),从图2中可以看出,精子呈丝状,从头至尾5个区域区分明显。

表1 戴维科绦虫精子的超微结构特征

Tab.1 Ultrastructural characteristics of spermatozoons of Davaineidae cestodes

绦虫	冠状体			电子致密 颗粒位置	围轴鞘	蛋白质 横隔	细胞核 位置
	数量	厚度/nm	旋转角度/(°)				
<i>Raillietina baeri</i> ^[4]	2	100		I区、II区	有	有	IV区
<i>Raillietina cesticllus</i>	1	100	40~55	II区、III区	有	有	IV区
<i>Raillietina echinobothrida</i> ^[5]	1		35	I区、II区、III区	有	有	IV区
<i>Raillietina micracantha</i> ^[6]	2	100	50	II区	有	有	III区
<i>Raillietina tunetensis</i> ^[7]	2	100~200		I区、II区	有	有	IV区
<i>Raillietina vinagoi</i> ^[8]	2		45	I区、II区	有	有	IV区
<i>Cotugnia polyacantha</i> ^[9]	2	50~100			有	有	
<i>Paroniella reynoldsae</i> ^[10]	2	100~150	45	I区、II区	有	有	IV区

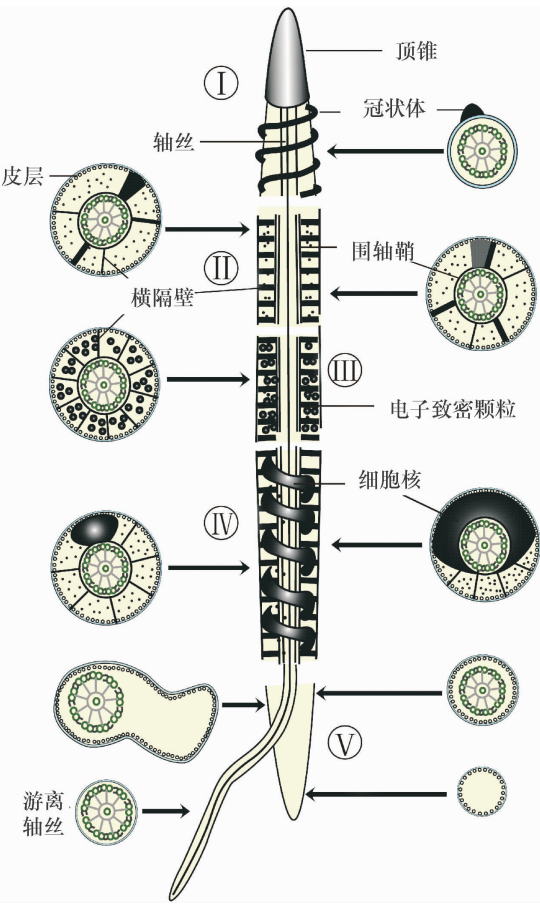


图 2 有轮瑞利绦虫成熟精子的结构示意图

Fig. 2 Schematic diagram of the structure of a mature spermatozoon of *Raillietina cesticllus*

3 讨论与结论

有轮瑞利绦虫隶属于圆叶目戴维科,其成熟精子具有绦虫的共源性状,比如缺乏线粒体,头部具有冠状体,轴丝结构为“9 + 1”模式等。通过比较有轮瑞利绦虫和其他已报道的 7 种戴维科绦虫精子的主要特征,戴维科绦虫精子的超微结构特征可大致归纳如下:1) 精子一般可分为 5 个区域,头部具有顶锥;2) 冠状体数目 1 ~ 2 个,旋转角度 35° ~ 55°;3) 具有围轴鞘包围轴丝,具有蛋白质样横隔壁;4) 细胞核一般位于 IV 区,螺旋缠绕轴丝;5) 具有皮层微管,环绕精子纵轴螺旋排列于胞膜下方;6) 精子的 I 区 ~ II 区或 III 区细胞质中具有电子致密颗粒。冠状体的存在标志着绦虫精子的头部位置,圆叶目绦虫冠状体的数目各科差异较大,如膜壳科 *Hymenolepididae* 绦虫精子的冠状体数目较多,有 8 个或 12 个,而裸头科 *Anoplocephalidae* 绦虫精子的冠状体数目有 1、2、5、7 个不等^[4]。戴维科绦虫精子的冠状体数目较稳定,有轮瑞利绦虫和棘槽瑞利绦虫具有 1 个冠状体,余下的戴维科绦虫的精子具有 2 个冠状

体。有学者认为绦虫精子的冠状体数目有科属的特异性^[11],如圆叶目复孔科 *Dipylidiidae*、中绦科 *Mesocestoidae* 及带科 *Taeniidae* 绦虫精子的冠状体数目仅为 1 个^[4]。迄今,共发现 19 个绦虫目^[12],其中 12 个目的绦虫精子超微结构见诸报端,更多的绦虫精子结构尚待研究,而伴随着新的绦虫精子超微结构数据的出现,以上各科绦虫精子冠状体数目亦可能会有新的发现,因上述观点需要大量的精子数据将冠状体数目与科属一一对应。

绦虫精子结构中其他共源性状还包括:围轴鞘的有无,蛋白质样横隔壁的有无,电子致密颗粒的有无及顶锥形态与后部结构特征等。已报道的戴维科 8 种绦虫的精子均同时具有围轴鞘和蛋白质样横隔壁结构,位置不同。本研究中有轮瑞利绦虫精子的围轴鞘和蛋白质样横隔壁同时从 II 区开始出现,延续至 IV 区;微棘瑞利绦虫精子的围轴鞘和蛋白质样横隔壁位于 II ~ III 区^[6];维纳哥瑞利绦虫^[8]与 *Paroniella reynoldsae* 绦虫^[10]精子的围轴鞘开始出现于 II 区,而蛋白质样横隔壁始出现于 III 区;比尔瑞利绦虫、棘槽瑞利绦虫和 *R. tuetensis* 精子的围轴鞘和蛋白质样横隔壁开始出现于 III 区^[4-5, 7]。Justine^[2]认为成熟绦虫精子的围轴鞘和蛋白质样横隔壁是一组相关性状,如裸头科扩张莫尼茨绦虫精子的细胞质中 2 种结构均不存在^[13],然而圆叶目链带科 *Catenotaeniidae* 细小链带状绦虫 *Catenotaenia pusilla*^[14]、裸头科球点状斯泰尔斯绦虫 *Stilesia globipunctata*^[15]、裸头科绦虫 *Mathevotaenia herpestis*^[16] 和四槽目四沟科 *Tetrabothriidae* 绦虫 *Tetrabothrius erostris*^[17] 等的精子超微结构仅有围轴鞘而无蛋白质样横隔壁。显然围轴鞘与蛋白质样横隔壁是否伴随着出现还有待进一步的研究。

有轮瑞利绦虫精子的细胞质中具有电子致密颗粒物质,由于绦虫精子不含线粒体,有学者认为是颗粒物质或糖原颗粒,为精子的运动提供能源^[9]。致密颗粒物质的有无与围轴鞘的存在有一定的关联:Justine^[2]和 Ndiaye^[18]指出当绦虫精子细胞质中含有颗粒物质时,围轴鞘缺失;相反,当颗粒物质缺失时,围轴鞘存在于细胞质中。如扩张莫尼茨绦虫的精子具有颗粒物质,而围轴鞘和蛋白质样横隔壁均缺失^[13];圆叶目带科带状带绦虫 *Taenia taeniaeformis* 的精子具有围轴鞘和蛋白质样横隔壁,而细胞质中无任何颗粒物质存在^[19]。然而,包括有轮瑞利绦虫在内的戴维科绦虫精子的细胞质中颗粒物质与围轴鞘同时存在;Marigo 等^[20]报道的圆叶目囊宫科

Dilepididae粗头节软体带绦虫 *Molluscotaenia crassiscolex* 的精子亦同时具有颗粒物质和围轴鞘。*Miquel* 等^[6] 认为戴维科绦虫精子里的颗粒物质即糖原颗粒,而非 *Justine*^[2] 所指的电子致密颗粒。为了更好地解释这些颗粒物质,需要细胞化学方法^[3] 等更多研究方法和更多的绦虫精子超微结构研究的数据。

本研究中有轮瑞利绦虫精子的后端具有游离轴丝,即轴丝不是延伸至尾部末端,而是从精子尾部细胞质中偏移出去变成游离的轴丝。在已有的戴维科瑞利属绦虫精子研究中,仅有棘槽瑞利属绦虫^[5] 精子的尾部也存在游离轴丝。此前 *Li* 等^[13] 在对扩展莫尼茨绦虫的研究中首次发现了精子尾部的游离轴丝结构。精子发生和精子超微结构特征表明其对绦虫系统发生的研究非常有意义,对于圆叶目绦虫的发育生物学的研究和种类的鉴定需要进行更多更全面的精子超微结构研究。

参考文献:

[1] JUSTINE J L. Phylogeny of parasitic Platyhelminthes: A critical study of synapomorphies proposed on the basis of the ultrastructure of spermiogenesis and spermatozoa[J]. Can J Zoology, 1991, 69(6):1421-1440.

[2] JUSTINE J L. Spermatozoa as phylogenetic characters for the Eucestoda[J]. J Parasito, 1998, 84(2): 385-408.

[3] LEVRON C, MIQUEL J, OROS M, et al. Spermatozoa of tapeworms (Platyhelminthes, Eucestoda): Advances in ultrastructural and phylogenetic studies [J]. Biol Rev, 2010, 85(3): 523-543.

[4] BÂ C T, BÂ A, MARCHAND B. Ultrastructure of the spermatozoon of *Raillietina (Raillietina) baeri*(Cyclophyllidea, Davaineidae) an intestinal parasite of the multimammate rat, *Mastomys huberti* (Rodentia, Muridae) [J]. Parasitol Res, 2005, 97(3):173-178.

[5] 闫宝佐. 鸡棘沟瑞利绦虫适应寄生生活的功能性结构研究[D]. 广州:华南农业大学, 2008.

[6] MIQUEL J, TORRES J, FELIU C, et al. Spermiogenesis and spermatozoon ultrastructure of the davaineid cestode *Raillietina micracantha* (Fuhrmann, 1909) [J]. Acta Zool, 2010, 91(2): 212-221.

[7] BÂ C T, MARCHAND B. Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Raillietina(Raillietina) tunetensis* (Cyclophyllidea, Davaineidae) intestinal parasite of turtle doves in Senegal[J]. Int J Parasito,1994, 24(2): 237-248.

[8] TAELEB A A, GAMIL I S. Spermatozoon ultrastructure of the davaineid cestode *Raillietina (R.) vinagoi* Ortlepp, 1938 from Egypt[J]. Acta Parasito, 2011, 2(1): 11-19.

[9] BÂ C T, MARCHAND B. Ultrastructural similarity of spermatozoa of some Cyclophyllidea[J]. Parasite, 1994, 1(1): 51-55.

[10] BÂ C T, BÂ A, MARCHAND B. Ultrastructure of the spermatozoon of *Paroniella reynoldsae* (Cyclophyllidea, Davaineidae) an intestinal parasite of *Corvus albus* (Aves, Corvidae)[J]. Acta Parasito, 2005, 50(3): 208-214.

[11] 李海云,洪凌仙,林宇光. 扩张莫尼茨绦虫(圆叶目:裸头科)精子的扫描结构[J]. 动物学报,2006, 52(2): 424-428.

[12] 杨朝聘. 我国几种海水鱼类绦虫的分类和广海湾赤魃寄生绦虫的生态研究[D]. 广州:中山大学,2016.

[13] LI H, BRENNAN G P, HALTON D W. Spermatogenesis, spermiogenesis and spermatozoon in the cestode (*Moniezia expansa*) (Cyclophyllidea, Anoplocephalidae) [J]. Acta Zool Sin, 2003, 49(3): 370-379.

[14] HIDALGO C, MIQUEL J, TORRES J et al. Ultrastructural study of spermiogenesis and the spermatozoon in *Catenotaenia pusilla*, an intestinal parasite of *Mus musculus*[J]. J Helminthol, 2000, 74(1):73-81.

[15] BÂ C T, MARCHAND B. Ultrastructural particularities of the spermatozoon of *Stilesia globipunctata* (Cestoda) parasite of the small intestine of sheep and goats in Senegal [J]. J Submicrosc Cytol Pathol, 1992, 24:29-34.

[16] BÂ C T, MARCHAND B. Ultrastructure of spermiogenesis and the spermatozoon of *Mathevotaenia herpestis* (Cestoda) intestinal parasite of *Atelerix albiventris* in Senegal [J]. Acta Zool, 1994, 75: 167-175.

[17] STOITSOVA S R, GEORGIEV B B, DACHEVA R B. Ultrastructure of spermiogenesis and the mature spermatozoon of *Tetrabothrius erostris* Loennberg, 1896 (Cestoda, Tetrabothriidae)[J]. Int J Parasitol, 1995, 25: 1427-1436.

[18] NDIAYE P I. Systématique et Phylogénie de Plathelminthes parasites (Trematoda et Cestoda): Apports des études ultrastructurales de la reproduction[D]. Barcelona: University of Barcelona, 2003:293.

[19] MIQUEL J, FORONDA P, TORRES J. Ultrastructural study of the spermatozoon of *Taenia taeniaeformis* (Batsch, 1786) (Cestoda, Cyclophyllidea, Taeniidae), an intestinal parasite of *Felis catus* from La Palma (Canary Islands, Spain) [J]. Parasito Res, 2009, 104, 1477-1483.

[20] MARIGO A M, BÂ C T, MIQUEL J. Spermiogenesis and spermatozoon ultrastructure of the dilepidid cestode *Molluscotaenia crassiscolex* (von Linstow, 1890), an intestinal parasite of the common shrew *Sorex araneus* [J]. Acta Zool, 2011, 92(2): 116-125.

【责任编辑 庄延】