

日本医蛭精子发生与精子超微结构观察

瞿如钰[#] 沈红英[#] 李倩 邱霞 罗媛媛*

(中国计量大学生命科学学院, 杭州 310018)

摘要 精子发生与精子结构对生物繁殖至关重要, 特别在异体受精蛭类等无脊椎动物中更为重要。该研究拟以日本医蛭为研究对象, 探究其精子发生过程及精子超微结构特征, 为其繁殖生物学研究提供形态学依据。采用光学显微镜观察日本医蛭精巢的组织结构, 并通过透射电子显微镜对精巢特定区域的细胞进行超微结构观察。结果表明, 日本医蛭精子的发生过程符合蛭类精子发生的一般模式, 但在细胞器分布区域及其聚缩、螺旋化程度方面表现出一定的特异性。该研究明确了日本医蛭精子在发生过程中各类细胞器的结构变化特征, 为蛭纲动物的生殖细胞的发生及受精机制的深入研究提供了形态学基础, 并为其人工繁育提供了理论支撑。

关键词 日本医蛭; 精子发生; 精子形态; 线粒体融合; 超微结构

Observation on Spermatogenesis and Ultrastructure of *Hirudo nipponia*

QU Ruyu[#], SHEN Hongying[#], LI Qian, QIU Xia, LUO Yuanyuan*

(College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China)

Abstract Spermatogenesis and sperm morphology are important for animal reproduction, particularly in the cross-fertilizing invertebrates such as leeches. In this study, the spermatogenesis process and ultrastructural features of *Hirudo nipponia* were studied, this study will provide morphological support for investigating the reproductive biology of this species. The testis structure of *Hirudo nipponia* was observed by light microscopy, and the ultrastructure of spermatids in the specific region of testis was observed by TEM (transmission electron microscopy). The results showed that the spermatogenesis was consistent with the general mode of spermatozoa development, but showed some specificity in the distribution area of organelles and the degree of aggregation and coiling. This study clarified the structural changes of various organelles during the development of sperm in *Hirudo nipponia*, which provided new morphological knowledge for future study on germ cell development and fertilization mechanism of leeches, the findings will provide theoretical support for artificial breeding of leeches.

Keywords *Hirudo nipponia*; spermatogenesis; sperm morphology; mitochondrial fusion; ultrastructure

精子发生与精子结构是繁殖生物学研究的重要组成部分。蛭类作为雌雄同体但需异体受精的无脊椎动物, 其繁殖效率高度依赖精子(sperm, spm)的受精能力。目前, 仅有20余种蛭纲(Clitellata)动物的精

子发生过程被系统地研究过^[1]。例如, 斯里兰卡山蛭(*Haemadipsa zeylanica*)、整嵌晶蛭(*Theromyzon tessulatum*)及肋缘盘蛭(*Placobdella costata*)等种类的精子在形态结构上存在显著差异, 尤其在精子发生过

收稿日期: 2025-04-12

接受日期: 2025-06-17

国家自然科学基金(批准号: 31440030)资助的课题

[#]共同第一作者

*通信作者。Tel: 13958077529, E-mail: yyluo@cjlu.edu.cn

Received: April 12, 2025

Accepted: June 17, 2025

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31440030)

[#]These authors contributed equally to this work

*Corresponding author. Tel: +86-13958077529, E-mail: yyluo@cjlu.edu.cn

程中,细胞核、顶体及鞭毛等结构表现出物种特异性的特征^[4]。但这些蛭类精子的成熟机制在整体发生模式上仍具有较强的一致性。主要体现在:(1)精子发生阶段,每个生殖细胞通过一个细胞间桥与中央细胞团相连,随着精子成熟,细胞内逐步形成伸长且扭曲的顶体、完全浓缩并螺旋化的细胞核、螺旋化的单个线粒体以及由“9+2”型微管结构组成的鞭毛;(2)精子发育成熟后,从中央细胞团上脱落,为丝状长细胞。

蛭类的精子发生和其超微结构具有属种特异性,是系统分类、亲缘关系和生殖进化分析的重要依据^[5]。ERSÉUS和FERRAGUTI^[6]比较了环节动物门中蛭纲、多毛纲、寡毛纲精子超微结构上的差异,探讨了其系统发育关系和演化路径,发现了医蛭科精子属于适应体外受精的修饰型精子,其顶体复杂、细胞核延伸、线粒体鞘高度特化。SIDALL等^[7]与MAROTTA等^[8]先后对数种蛭类精子超微结构进行了系统性比较,建立了形态分类数据库,进一步阐述了蛭类精子的修饰特征(如复杂的顶体和核形)是对淡水环境中体外受精的适应,且这种适应提高了受精成功率,反映了精子线粒体在形态调控上对授精方式及繁殖策略的适应性演化。

尽管精子发生过程在部分蛭类中已有详细描述,但目前为止并未对日本医蛭的精子发生过程进行研究。日本医蛭(*Hirudo nipponia*)隶属于环节动物门(Annelida)、蛭纲(Clitellata)、无吻蛭目(Arhyngobdellida)、医蛭科(Hirudinidae),其唾液腺分泌物中含有天然抗凝血酶类物质,在医药领域具有重要

的应用价值。其在我国境内广泛分布,但野外生物量难以满足市场需求,因此近年来,国内学者围绕日本医蛭的早期生长发育性能^[9]、繁殖特性^[10]及养殖技术体系^[11]等方面开展了系列研究,以推动其规模化养殖的发展。本研究以日本医蛭为研究对象,采用光学显微镜和透射电子显微镜相结合的方法,对其精巢结构和精子发生过程中的超微结构进行系统观察,旨在揭示其精子发生过程中的形态变化规律,丰富蛭类繁殖生物学理论,为该物种系统分类、生殖机制研究以及人工育苗技术开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

日本医蛭购自辽宁省大连市金州区大魏家丽雯水产养殖基地。

日本医蛭在杭州地区的冬眠期为11月底至次年3月中下旬,繁殖期为4月中下旬至5月初(水温10℃以上)。交配过后的日本医蛭会出现明显的生殖环带。

挑选结束冬眠且生长状态良好的日本医蛭,养殖于6 L塑料桶内,以新鲜猪血饲喂,2~3日更换1次纯净水,保持水温在10℃以上,使日本医蛭进入繁殖期。从繁殖期日本医蛭中选取未出现生殖环带的日本医蛭进行精巢取样。

1.2 实验方法

1.2.1 取样 使用10%乙醇对日本医蛭进行麻醉,75%乙醇将体表黏液拭净。背面朝上固定于解剖台上,沿中轴线方向划开日本医蛭皮肤与肌肉,暴露其精巢(图1)。使用镊子将精巢完整取出,快速置入装有固定



红色方框部分为一对精巢。

The red box marks a pair of testes.

图1 日本医蛭精巢解剖图

Fig.1 Anatomical diagram of the testes of *Hirudo nipponia*

液的离心管。用于制作石蜡切片和透射电镜样品的固定液分别为4%多聚甲醛和2.5%戊二醛固定液。

1.2.2 石蜡切片样品制备 4 °C固定精巢组织24 h后,使用梯度乙醇进行脱水处理,其中75%乙醇处理4 h,85%与90%乙醇各处理2 h,95%乙醇处理1 h,最后使用无水乙醇进行2次处理,每次30 min。为使组织透明化,首先使用乙醇二甲苯(1:1)浸泡5 min,后用二甲苯浸泡2次,每次15 min。使用65 °C石蜡包埋样品3次,每次1 h。将包埋后的样品切片(Leica RM2235,德国Leica公司),展平,60 °C烤片。使用HE染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司)对样品进行染色后,使用光学显微镜(MI12,广州市明美光电技术有限公司)进行观察。

1.2.3 透射电镜样品制备 将固定后的精巢组织于4 °C避光处理过夜。用0.1 mol/L、pH7.0的磷酸盐缓冲液(PBS)漂洗样品3次,每次15 min。加入100 μ L四氧化锇溶液(0.1 mol/L),室温固定2 h。再次用PBS(pH7.0)漂洗样品3次,每次15 min。向样品加入100 μ L 2%醋酸铀水溶液,室温固定30 min。使用50%、70%乙醇各处理15 min,再使用无水乙醇处理15 min,重复2次,最后使用无水丙酮处理10 min,重复2次,完成脱水处理。使用渗透液1(丙酮:包埋剂为1:1)室温处理1 h后,再用渗透液2(丙酮:包埋剂为1:3)室温处理2 h。将样品放入包埋剂,于37 °C与45 °C各处理12 h,然后于60 °C处理48 h。使用超薄切片机(Leica UC7,德国Leica公司)切片,用醋酸铀-柠檬酸铅双染色,使用冷冻透射电镜(Thermo Scientific Talos L120C,美国ThermoFisher Scientific公司)对其进行观察。

2 结果

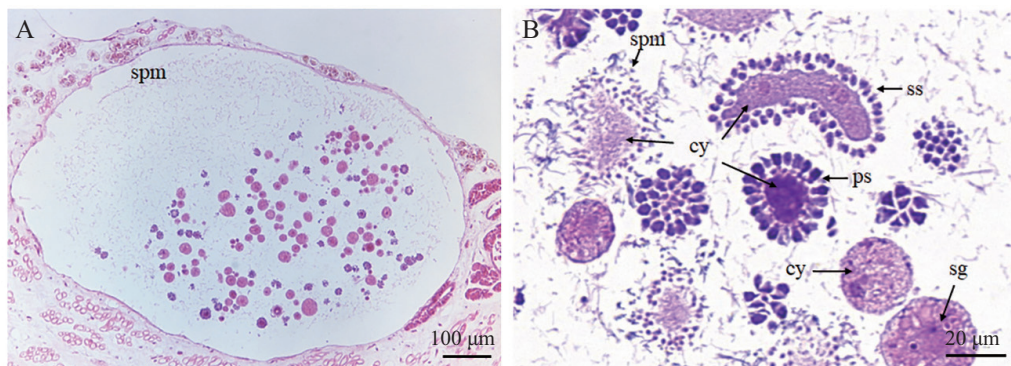
2.1 日本医蛭精巢内细胞形态

光学显微镜观察的结果显示,日本医蛭精巢外部为疏松结缔组织,内部分布有各个发生阶段的生殖细胞,精子与不同阶段生殖细胞分类分区聚集,前者主要分布于释放区,后者主要分布于生发区(图2A)。萌发期精原细胞(spermatogonium during germination, sg)呈圆形,多聚集成细胞团(cytophore, cy)。初级精母细胞(primary spermatocyte, ps)呈卵圆形,附着于细胞团边缘。次级精母细胞(secondary spermatocyte, ss)呈圆形,附着于细胞团边缘。精子成熟后从细胞团上脱落,中心细胞团逐渐解体(图2B)。

2.2 精子发生与精子的超微结构

2.2.1 减数分裂阶段 萌发期精原细胞多呈圆形,细胞核大,核膜清晰,染色质呈不规则斑块或斑点状分布(图3A),其内可见清晰的线粒体、游离核糖体等细胞器(图3B)。精原细胞呈圆形,内有核膜完整的细胞核与大量线粒体。减数第一次分裂前期(meiosis prophase I,以下简称MP I),精原细胞内同源染色体发生联会(图3E),形成梯子状联会复合体(synaptonemal complex, sc)(图3F)。开始减数第一次分裂(meiosis I, M I)后萌发期精原细胞呈不规则状。分裂末期的精原细胞缢裂,细胞核膜重组,胞质分离。分裂过程中精原细胞由细胞团内逐渐移向细胞团边缘(图3C),分裂后形成初级精母细胞。

初级精母细胞位于细胞团外,由细胞质桥(intercellular bridge, ib)连接于细胞团上,细胞中可见细胞核、明显的高尔基体和线粒体(图4)。细胞核位于

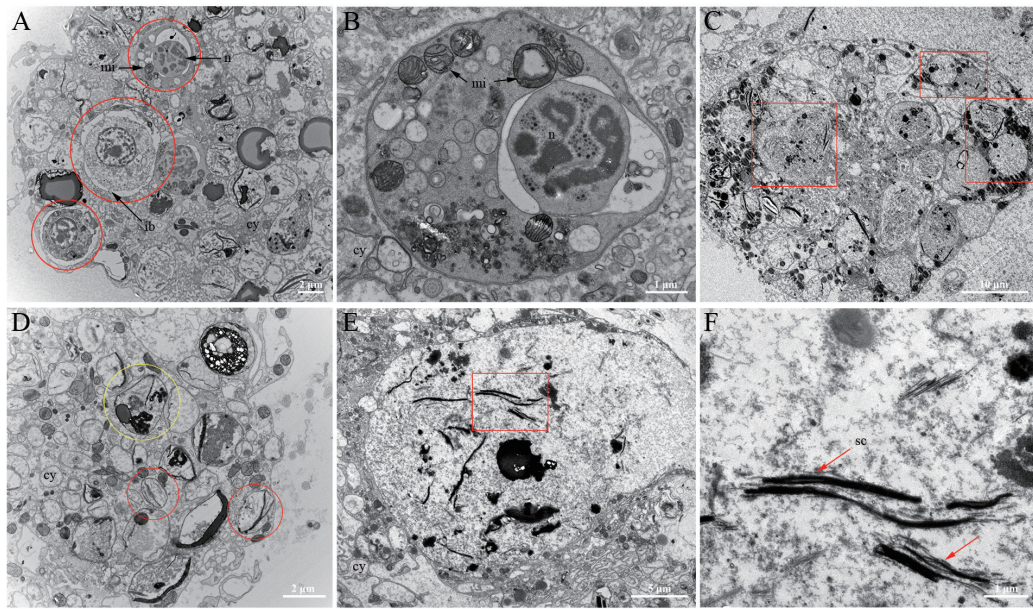


A: 精巢切面图; B: 精巢不同发育阶段内的生殖细胞。sg: 萌发期精原细胞; ps: 初级精母细胞; ss: 次级精母细胞; spm: 精子; cy: 细胞团。

A: section view of the testes; B: germ cells at different stages of development in the testis. sg: spermatogonium during germination; ps: primary spermatocyte; ss: secondary spermatocyte; spm: sperm; cy: cytophore.

图2 日本医蛭精巢和不同发生阶段的生殖细胞显微结构

Fig.2 Microstructures of testes and germ cells in different developmental stages of *Hirudo nipponia*



A、B: 萌发期精原细胞; C: M I精原细胞; D: MP I粗线期(红色圈内)与终变期(黄色圈内)精原细胞; E: MP I偶线期精原细胞; F: 染色体的联会与交叉。ib: 细胞质桥; mi: 线粒体; n: 细胞核; cy: 细胞体; sc: 联会复合体。

A,B: spermatogonium during germination; C: spermatogonium in M I; D: spermatogonium in pachytene stage (red circle) and diakinesis (yellow circle) in MP I; E: spermatogonium in zygotene stage in MP I; F: synapsis and chiasma of chromosomes. ib: intercellular bridge; mi: mitochondria; n: nucleus; cy: cytoplasm; sc: synaptonemal complex.

图3 日本医蛭精原细胞超微结构

Fig.3 Ultrastructure of spermatogonium of *Hirudo nipponia*

细胞中心, 占细胞体积的绝大部分, 核膜清晰; 高尔基体远离细胞质桥的顶端极, 细胞内有囊泡存在(图4C); 线粒体主要分布于细胞核附近靠近细胞质桥的一侧。初级精母细胞经减数第二次分裂(meiosis II, M II), 形成次级精母细胞, 此时初级精母细胞呈不规则状, 线粒体大量分布于细胞中部(图4D)。

次级精母细胞中可见较大细胞核, 核膜完整; 高尔基体仍位于远离细胞质桥的顶端极, 小囊泡数量增多; 线粒体沿着细胞质桥, 逐渐向细胞体方向分布, 数量较多(图5)。

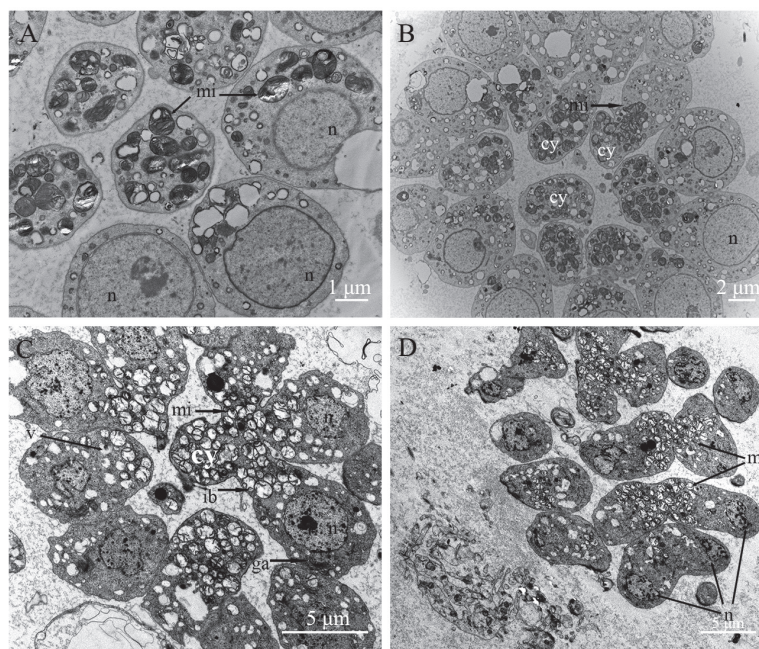
2.2.2 精子形成阶段 早期精子的细胞核呈圆形, 核内染色质未聚缩, 核膜完整, 核仁存在; 细胞内大量的线粒体逐渐融合, 微管尚未出现。高尔基体仍然位于远离细胞核方向的顶端极(图6A和图6B)。中期精子的细胞核高度聚缩并伸长, 线粒体和核膜之间充满高电子密度物质, 核与线粒体向外延伸, 精子尾部初现; 高尔基体附近含水解酶的膜囊聚合, 数个膜囊与其周围囊泡逐渐融合, 发育成顶体(图6C和图6D)。晚期精子的细胞核发生螺旋状扭曲, 线粒体仍与细胞核紧密相连呈现长圆柱状, 二者位于精子尾部, 外周由微管构成的微管套(manchette)

包围。顶体发育完成, 前顶体位于精子头部, 后顶体以管状延伸至细胞核(图6E和图6F)。成熟精子的细胞核呈螺旋状; 线粒体外包裹有一层高电子密度物质, 形成线粒体鞘。线粒体鞘后部与尾部相连, 尾部轴丝具有典型的“9+2”微管结构(图6G和图6H)。

3 讨论

3.1 精子形成过程

日本医蛭精子发生过程遵循蛭类精子发生的一般模式。在减数分裂阶段, 萌发期精原细胞聚集成团, 发育成熟后的精原细胞以细胞质桥连接于细胞团外, 发生减数分裂, 依次形成初级和次级精母细胞, 并经历早、中、晚和成熟精子等不同阶段(图8)。精子发生成熟后从细胞团上脱落, 中心细胞团发生解体。在精子发生过程中, 细胞核扭曲成螺旋状, 从中心位置迁移至尾部; 线粒体逐渐融合为单个线粒体鞘, 进入精子尾部, 与细胞核相连; 高尔基体发生迁移, 分别与精子前顶体和尾部顶体囊泡融合发育为前、后顶体, 后顶体形成管状结构与细胞核相连。细胞核、线粒体及顶体管的形态变化均由微管套提

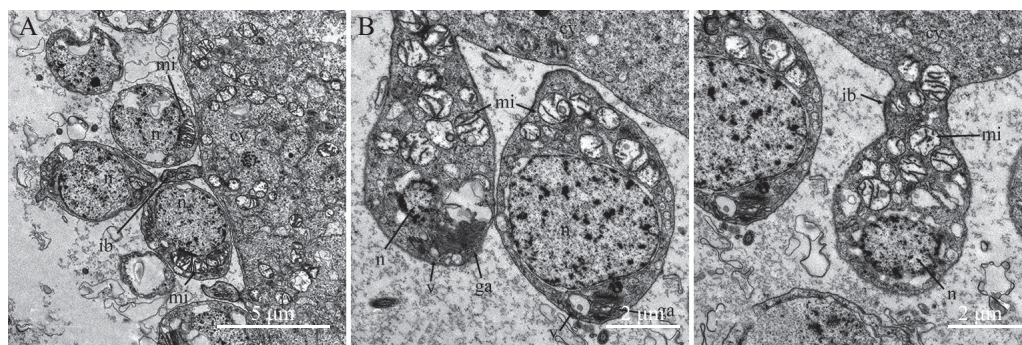


A~C: 初级精母细胞; D: M II初级精母细胞。ib: 细胞质桥; mi: 线粒体; n: 细胞核; ga: 高尔基体; cy: 细胞体; v: 囊泡。

A~C: primary spermatocyte; D: primary spermatocytes in M II. ib: intercellular bridge; mi: mitochondria; n: nucleus; ga: Golgi apparatus; cy: cytophore; v: vesicles.

图4 日本医蛭初级精母细胞超微结构

Fig.4 Ultrastructure of primary spermatocyte of *Hirudo nipponia*



ib: 细胞质桥; mi: 线粒体; n: 细胞核; ga: 高尔基体; cy: 细胞体。

ib: intercellular bridge; mi: mitochondria; n: nucleus; ga: Golgi apparatus; cy: cytophore.

图5 日本医蛭次级精母细胞超微结构

Fig.5 Ultrastructure of secondary spermatocyte of *Hirudo nipponia*

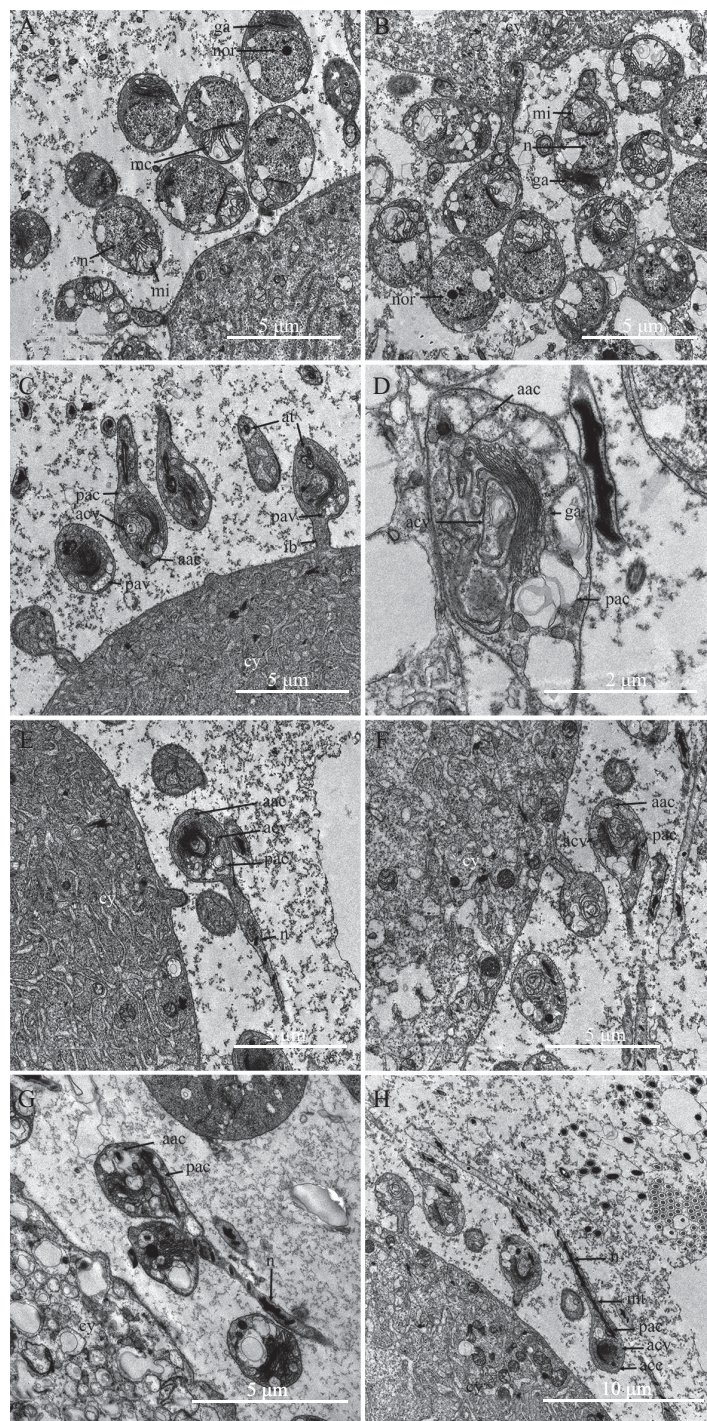
供运动轨道(图7F)。

日本医蛭成熟精子的结构与其他蛭类相比, 主要区别在于细胞器的分布区域以及其聚缩和螺旋化的程度^[5]。由于不同蛭类精子的顶体的形状和螺旋化模式不同, 导致与之相连的细胞核、线粒体螺旋化后的形态也各不相同。日本医蛭精子顶体管位于精子头部并向中段延伸; 细胞核位于精子中段, 高度聚缩, 呈双螺旋状; 线粒体鞘位于精子中段, 呈圆柱状; 精子末段为高电子密度的中心鞘包围的“9+2”微

管结构形成的鞭毛(图9)。其他蛭类的顶体管位于精子中段; 细胞核高度聚缩并螺旋化, 大多呈现双螺旋结构^[5], 个别呈三股螺旋结构^[12]; 线粒体鞘位于精子中段, 呈圆柱状, 长度因物种而相同^[4]; 精子末段为鞭毛, 除了典型的“9+2”微管结构外, 中心鞘内外还分布有密集糖原颗粒^[13]。

3.2 蛭类精子发生过程中的线粒体融合现象

线粒体融合使成熟精子尾部形成较大线粒体, 在蛭纲精子发生中广泛存在。日本医蛭线粒体融合



A、B: 早期精子; C、D: 中期精子; E、F: 晚期精子; G、H: 成熟精子。mi: 线粒体; mc: 线粒体嵴; n: 细胞核; nor: 核仁; ga: 高尔基体; cy: 细胞体; aac: 前顶体; acv: 顶体囊泡; pac: 后顶体; pav: 前顶体囊泡; mt: 微管; at: 顶体管。

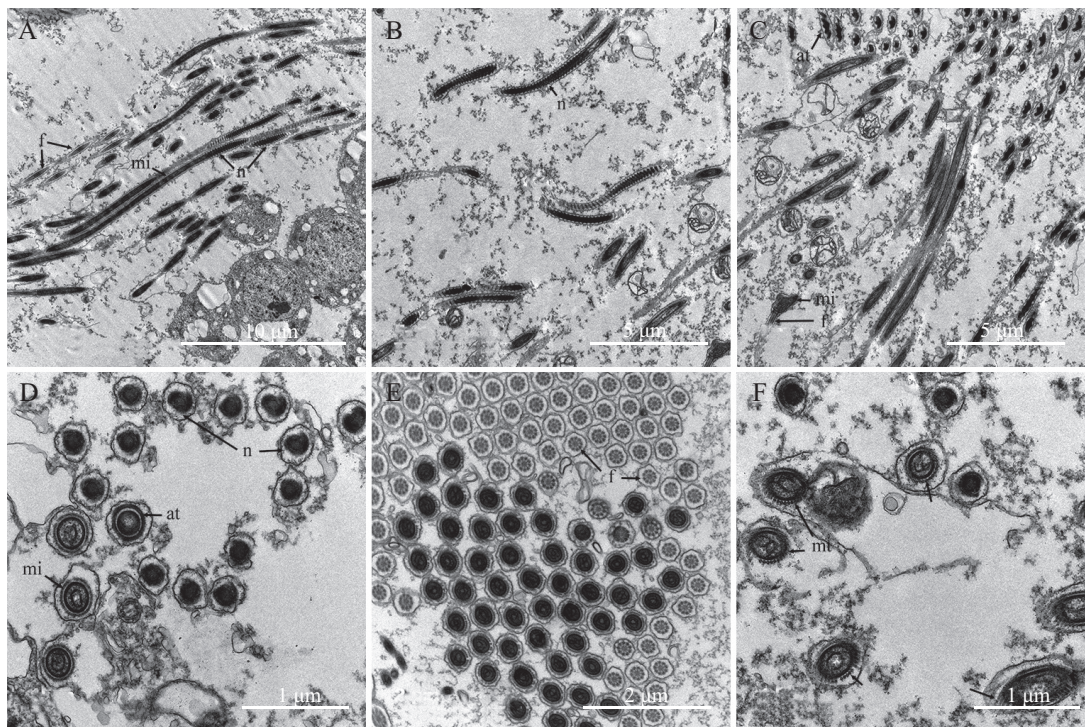
A,B: early sperm; C,D: metaphase sperm; E,F: late sperm; G,H: mature sperm. mi: mitochondria; mc: mitochondrial cristae; n: nucleus; nor: nucleolus; ga: Golgi apparatus; cy: cytoplasm; aac: anterior acrosome; acv: acrosomal vesicle; pac: posterior acrosome; pav: proacrosomal vesicles; mt: microtubule; at: acrosomal tube.

图6 日本医蛭不同成熟阶段精子超微结构

Fig.6 Ultrastructure of sperm in different stages of development of *Hirudo nipponia*

现象始于初级精母细胞,并在次级精母细胞及早期精子中均有发现,在中期精子中融合为单个较大线粒体,最终在成熟精子尾部螺旋化形成单个线粒体

鞘(图5B、图5C、图6A和图6B)。在北非医蛭和另一种非洲的蛙蛭(*Batrachobdella algira*)的精母细胞向早期精子过渡时期,也存在多个线粒体融合的现象,

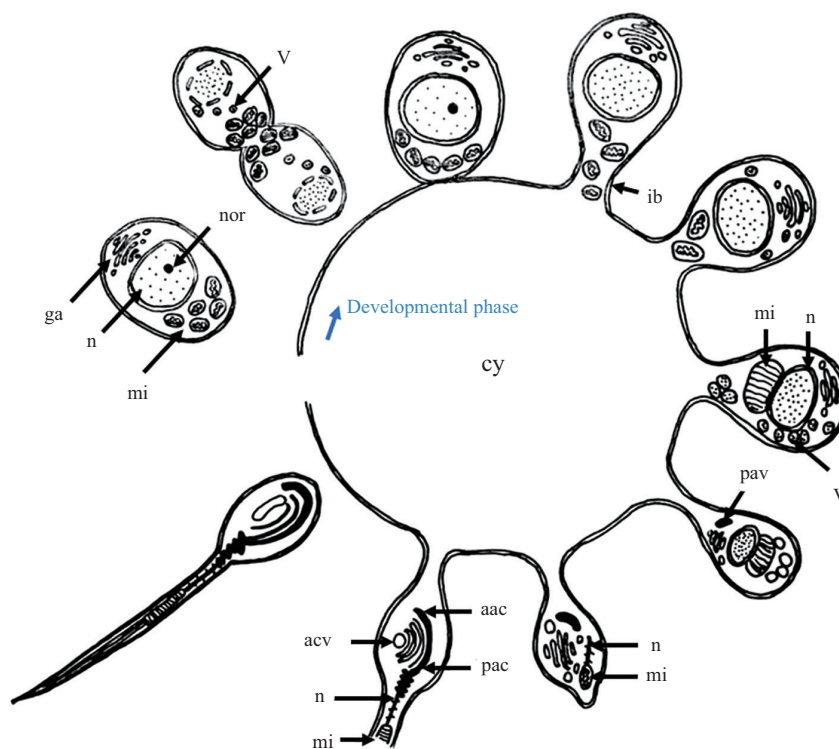


A~C: 精子尾部纵截面; D~F: 精子尾部横截面。mi: 线粒体; n: 细胞核; at: 顶体管; mt: 微管; f: 鞭毛。

A-C: longitudinal section of sperm tail; D-F: cross section of sperm tail. mi: mitochondria; n: nucleus; at: acrosomal tube; mt: microtubule; f: flagella.

图7 日本医蛭精子尾部超微结构

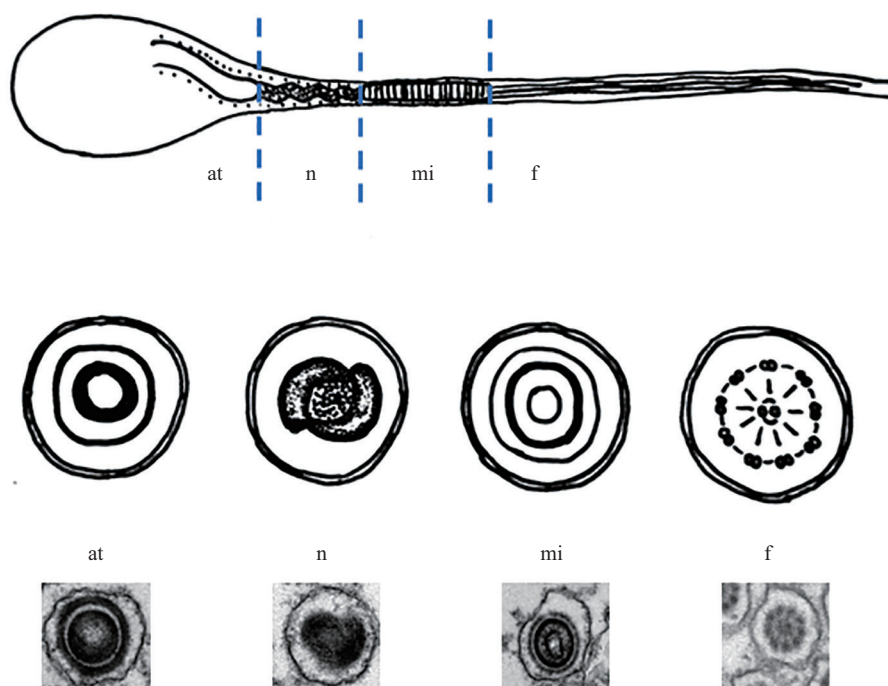
Fig.7 Ultrastructure of sperm tail of *Hirudo nipponia*



mi: 线粒体; n: 细胞核; nor: 核仁; ga: 高尔基体; cy: 细胞体; ib: 细胞质桥; v: 囊泡; aac: 前顶体; acv: 顶体囊泡; pac: 后顶体; pav: 前顶体囊泡。
mi: mitochondria; n: nucleus; nor: nucleolus; ga: Golgi apparatus; cy: cytophore; ib: intercellular bridge; v: vesicles; aac: anterior acrosome; acv: acrosomal vesicle; pac: posterior acrosome; pav: proacrosomal vesicles.

图8 日本医蛭精子发育过程示意图

Fig.8 Schematic drawing of spermatogenesis process of *Hirudo nipponia*



at: 顶体管; n: 细胞核; mi: 线粒体; f: 鞭毛。

at: acrosomal tube; n: nucleus; mi: mitochondria; f: flagella.

图9 日本医蛭精子尾部结构示意图

Fig.9 Schematic drawing of sperm tail structure of *Hirudo nipponia*

在成熟精子细胞中段有且仅有一个线粒体^[5,12]。除蛭纲生物外,在其他环节动物如疣吻沙蚕^[14]、双齿围沙蚕^[15]等中也发现了线粒体融合为一的现象,甚至在棘皮动物如刺参(*Stichopus japonicus*)^[16]、仿刺参(*Apostichopus japonicus*)^[17]中也观察到了类似现象。软体动物如毛蚶(*Scapharca subcrenata*)、青蚶(*Barbatia virescens*)等^[18],线粒体虽可融合,但其成熟精子中仍存在多个较大线粒体。

精子细胞线粒体融合是为了满足其精子发生与授精各个阶段的能量需求^[19]。在精母细胞阶段,为保证细胞分裂正常进行,线粒体数量多、体积小,在细胞内各个部分均有分布;成熟精子的线粒体除满足细胞新陈代谢外,还需对其尾部鞭毛运动进行供能,此时的线粒体融合,且分布在精子尾部。此外,线粒体数量减少也可能与精子顶体的形成有关,顶体囊为双层膜结构,通常认为其外膜来源于高尔基体与囊泡,而内膜则来源于溶酶体吞噬的线粒体等膜性细胞器^[20]。

本研究使用冷冻透射电镜观察日本医蛭精子超微结构,探讨了其各阶段结构特征,完善了日本医蛭繁殖与受精生物学研究,旨在为其人工繁育提供理论依据与参考。但形态学的研究主要聚焦于特定

发育阶段的静态结构,透射电镜切片难以实时观察和研究精子发生的动态过程。后续研究可能需要结合免疫组学和分子手段对该过程中的特定结构与特殊变化进行量化、深入研究。

致谢

感谢浙江大学冷冻电镜中心杨晨玉、张雨辰老师在透射电镜技术方面的耐心指导。

参考文献 (References)

- [1] SIDDALL M E, BURRESON E M. Phylogeny of the Euhirudinea: independent evolution of blood feeding by leeches [J]. *Can J Zool*, 2011, 73(6): 1048-64.
- [2] SIDDALL M E, BURRESON E M. Phylogeny of leeches (Hirudinea) based on mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I [J]. *Mol Phylogenet Evol*, 1998, 9(1): 156-62.
- [3] FERRAGUTI M, ERSÉUS C. Sperm types and their use for a phylogenetic analysis of aquatic clitellates [J]. *Hydrobiologia*, 1999, 402: 225-37.
- [4] AHMED R B, BACCHETTA R, BOESI R, et al. The spermatozoa of Hirudinea with examples from three different taxa [J]. *Zool Anz*, 2015, 255: 54-61.
- [5] AHMED R B, TEKAYA S, URBISZ A Z, et al. Ultrastructural study of spermatogenesis and sperm in the African medicinal leech *Hirudo troctina* Johnson, 1816 (Annelida, Hirudinida) [J]. *Tissue Cell*, 2015, 47: 242-53.

- [6] ERSÉUS C, FERRAGUTI M. The use of spermatozoal ultra-structure in phylogenetic studies of the Annelida [J]. *Invertebr Reprod Dev*, 1995, 28(1/2): 87-96.
- [7] SIDDALL M E, BORDA E, ROUSE G R. Testing the phylogeny of leeches (Annelida: Clitellata: Hirudinida) using mitochondrial and nuclear gene sequences [J]. *Mol Phylogenet Evol*, 2001, 21(2): 180-9.
- [8] MAROTTA R, FERRAGUTI M, ERSÉUS C, et al. Spermatozoan morphology in 36 species of leeches (Annelida: Clitellata: Hirudinida) [J]. *Zoomorphology*, 2008, 127(1): 45-59.
- [9] 鲁增辉, 石萍, 游华建, 等. 日本医蛭早期发育阶段的生长性能与生长模型分析[J]. 安徽农业科学(LU Z H, SHI P, YOU H J, et al. Analysis of growth performance and fitting growth curve of *Hirudo nipponia* in early developmental stage [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*), 2018(25): 75-7.
- [10] 石萍, 鲁增辉, 贺元川, 等. 水蛭(日本医蛭)繁殖性能的研究[J]. 中药材(SHI P, LU Z H, HE Y C, et al. Study on reproductive performance of *Hirudo nipponica* [J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*), 2015, 38(6): 1144-7.
- [11] 余米, 刘嘉, 蒲德成, 等. 不同体质量规格的日本医蛭适宜越冬密度与繁殖性能研究[J]. 西南大学学报(自然科学版)(YU M, LIU J, PU D C, et al. Study on the optimum overwintering density and reproductive performance of *Hirudo nipponia* whitman with different weight sizes [J]. *Journal of Southwest University, Natural Science Edition*), 2021, 43(2): 47-52.
- [12] GOUDA H A. Spermatogenesis, spermiogenesis and sperm transfer in two freshwater leeches from assiat [J]. *Research in Zoology*, 2013, 3(2): 45-55.
- [13] AHMED R B, MALOTA K, JAROSZ N, et al. Microscopic analysis of spermatogenesis and mature spermatozoa in the amphibian leech *Batrachobdella algira* (Annelida, Clitellata, Hirudinida) [J]. *Protoplasma*, 2019, 256(6): 1609-27.
- [14] 赵玉薇, 黄成, 邢佳敏, 等. 疣吻沙蚕(*Tylorrhynchus heterochaetus*)成熟精子及卵子的超微结构观察[J]. 福建农林大学学报(自然科学版)(ZHAO Y W, HUANG C, XING J M, et al. Ultra-structural observation of mature sperm and ovum of *Tylorrhynchus heterochaetus* [J]. *Journal of Fujian Agriculture & Forestry University, Natural Science Edition*), 2024, 53(6): 792-6.
- [15] 苏筱竺, 邹建威. 双齿围沙蚕精子的超显微结构研究[J]. 安徽农业科学(SU X Z, ZOU J W. Ultra-structure study on the sperm of *Perinereis aibihitensis* [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*), 2019, 47(3): 73-5, 117.
- [16] 庞振国, 孙慧玲, 燕敬平, 等. 刺参精子发生的超微结构研究[J]. 海洋水产研究(PANG Z G, SUN H L, YAN J P, et al. Ultrastructural studies on spermatogenesis of sea cucumber *Apostichopus japonicus* [J]. *Marine Fisheries Research*), 2006, 27(3): 26-31.
- [17] 姚红伟, 宋冠男, 郭晋, 等. 仿刺参精子形态与超微结构的研究[J]. 大连水产学院学报(YAO H W, SONG G N, GUO J, et al. Morphology and ultrastructure of the sperm a to zoon in sea cucumber *Apostichopus japonicus* [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*), 2009, 24(S1): 73-6.
- [18] 竺俊全, 杨万喜. 毛蚶与青蚶精子超微结构及其所反映的蚶科进化关系[J]. 动物学研究(ZHU J Q, YANG W X. Spermatozoon ultrastructure of *Scapharca subcrenata* and *Barbatia virescens* and its implications for evolutionary relationship in Arcidae [J]. *Zoological Research*), 2004, 25(1): 57-62.
- [19] 常占鑫, 苗龙, 王鹏. 线虫精子发生与激活中的线粒体功能与调控[J/OL]. 生物化学与生物物理进展(CHANG Z X, MIAO L, WANG P. Mitochondrial function and regulation in spermatogenesis and activation of *Caenorhabditis elegans* [J/OL]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*). <https://doi.org/10.16476/j.pibb.2024.0528>.
- [20] 竺俊全. 毛蚶*Scapharca subcrenata*精子发生过程中线粒体的行为研究[J]. 浙江海洋学院学报: 自然科学版(ZHU J Q. Study on mitochondrial behavior during spermatogenesis of nivalve mollusc, *Scapharca subcrenata* (Lischke, 1869) [J]. *Journal of Zhejiang Ocean University, Natural Science*), 2001, 20(1): 4.