

中国淡水蛭精子发生的超微结构研究*

饶小珍^① 陈寅山^① 陈文列^② 许友勤^① 陈连云^②

(^①福建师范大学生物工程学院 福州 350007; ^②福建医科大学电镜室 福州 350004)

摘要 利用透射电镜观察了中国淡水蛭的精子发生和精子结构。描述了精子发生过程中各细胞形态结构的变化,揭示了细胞核、线粒体和顶体等的演变过程。中国淡水蛭的精子经过精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞和精子细胞,最终发育为成熟的精子。精子为典型的原生型,由头部、中段和尾部构成。顶体复合体位于精子头部前端,呈“⊥”形,精核近圆形;中段包括2个中心粒和4或5个紧密排列的椭圆形线粒体;尾部鞭毛断面为典型的“9+2”型结构。

关键词 中国淡水蛭 精子发生 精子 超微结构

中图分类号:Q954.43⁺4 文献标识码:A 文章编号:10250-3263(2000)05-02-04

Ultrastructural Studies on Spermatogenesis of *Novaculina chinensis*

RAO Xiao-Zhen^① CHEN Yin-Shan^① CHEN Wen-Lie^② XU You-Qin^① CHEN Lian-Yun^②

(^①Bioengineering College, Fujian Teachers University Fuzhou 350007, China;

^②Electron Microscopy Laboratory, Fujian Medical University Fuzhou 350004, China)

Abstract The ultrastructure of spermatogenesis and spermatozoon of *Novaculina chinensis* was observed with EM. According to the characteristics of the organelle metamorphosis, changes of the nuclear type and acrosomal formation, the spermatogenesis of *Novaculina chinensis* can be divided into five stages: spermatogonium, spermatocyte I, spermatocyte II, spermatid and spermatozoa. Owing to the differentiation degree of spermatid, it can be divided into three substages. The spermatozoon, which is of a typical primitive type, consists of a head, a midpiece and a tail.

Key words *Novaculina chinensis*; Spermatogenesis; Spermatozoon; Ultrastructure

动物精子的形态结构与其运动方式、受精过程密切相关,是受精生物学的一个重要内容^[1],同时动物精子的形态结构可作为动物分类的依据之一^[2]。双壳类软体动物精子发生的超微结构研究一直受到有关学者的重视。目前,有关双壳类精子及其发生过程的超微结构,已见缢蛭(*Sinonovacula constricta*)^[3]、合浦珠母贝(*Pinctada martensi*)^[4]、青蛤(*Cyclina sinensis*)^[5]、大珠母贝(*Pinctada maxima*)^[6]、贻贝(*Mytilus edulis*)^[7]、美洲牡蛎(*Crassostrea virginica*)^[2,8]、*Musculus discors*^[9]等十几种动

物中有报道。中国淡水蛭(*Novaculina chinensis*)是一种很有开发潜力的淡水经济贝类^[10],有关中国淡水蛭精子发生的超微结构研究,尚未见报道。本文应用透射电镜研究其精子发生和成熟精子形态的超微结构特点,不仅可深化对该种生殖生物学的认识,也可为该种人工增

*福建省自然科学基金资助项目(No. B0010008);

第一作者介绍:饶小珍,34岁,硕士,讲师,从事无脊椎动物的教学和研究;

收稿日期:1999-10-08,修回日期:2000-03-06

养殖的开展提供理论基础。

1 材料与方法

试验材料于1999年3~4月购自福建闽侯尚干镇市场。将活体中国淡水蛭迅速解剖取出精巢组织,用3%戊二醛-1.5%多聚甲醛液于4℃固定几天,充分漂洗后,再用1%锇酸-1.5%亚铁氰化钾液固定1.5小时,漂洗;铀块染,乙醇-丙酮梯度脱水,环氧树脂618包埋。LKB-V型超薄切片机切片,切片用醋酸铀柠檬酸铅双重染色;飞利浦EM-208及日立Hu-12A透射电镜观察与摄影。

2 结果

2.1 精子发生的超微结构变化 中国淡水蛭精子发生是不同步的,在精巢切片上可见从生殖上皮向管腔中央依次排列着从精原细胞到成熟精子的不同发育阶段的各级生殖细胞。

2.1.1 精原细胞期 精原细胞紧靠滤泡壁,外常有基膜。细胞的形状不规则,其切面大小约 $6\mu\text{m}\times 4\mu\text{m}$ 。细胞核大,近椭圆形,边缘不大规则,可见1~2个电子密度较高的核仁。异染色质呈小块状附着在核内膜及不均匀地分布在核内。细胞质少,电子密度中等,含有丰富的线粒体和核糖体及少量粗面内质网。线粒体基质电子密度低,嵴稀少(图版I:1)。

2.1.2 初级精母细胞期 初级精母细胞比精原细胞小,大小约 $4.5\mu\text{m}\times 3.0\mu\text{m}$,细胞呈近椭圆形,边缘不规则。核近椭圆形,核内异染色质呈团块状分布。细胞质电子密度较高,多数线粒体开始成堆分布于细胞一侧(图版I:2)。

2.1.3 次级精母细胞期 次级精母细胞由初级精母细胞经第一次成熟分裂形成,这时期常见核分裂为二,而胞质未分开的现象(图版I:3)。它比初级精母细胞更小些,胞径约为 $3.5\mu\text{m}\times 2.5\mu\text{m}$,细胞呈近椭圆形。核呈圆形或椭圆形,核中异染色质呈更加致密的粗团块,部分连成片。胞质电子致密度较高,线粒体数目略为减少,并偏向一侧,但线粒体基质电子密度增高,嵴的数量增多(图版I:4)。

在精母细胞阶段偶见高尔基体及其高尔基液泡(图版I:5)。

2.1.4 精细胞期 精细胞是由次级精母细胞经第二次成熟分裂产生的,体积比精母细胞小,分布在滤泡腔中,可分为早、中、后三期:a)早期精细胞呈椭圆形,胞径约为 $3.0\mu\text{m}\times 2.2\mu\text{m}$;核较大,呈圆形,核内细颗粒状染色质浓缩致密成片,胞质致密度高,线粒体位于细胞一侧,逐渐融合,数目较少,高尔基体分泌的前顶体颗粒融合,形成较大的前顶体颗粒集合体,内含均匀的电子密度较高的物质;前顶体颗粒集合体与线粒体共同分布于细胞的一端(图版I:6)。b)中期精细胞呈橄榄形,长径约 $3.3\mu\text{m}$,短径约 $1.8\mu\text{m}$;核为圆形或卵圆形,中等颗粒状的染色质更加致密连成片,线粒体逐渐移至核后端,由于线粒体融合,数目减少,体积增大;中心粒移至核后端(图版I:8),并形成鞭毛;前顶体颗粒集合体继续融合,体积增大,形成一个大的椭圆形前顶体囊;同时,前顶体囊逐渐移至核前端;由于前顶体囊和线粒体分别移至细胞核的前后端,使该期细胞的长径相对变长,细胞的形态略呈橄榄形(图版I:7)。c)后期精细胞的形态和中期精细胞的相似,核为近圆形,染色质呈粗颗粒状分布于核中;线粒体最后在核后端融合为4个或5个,呈椭圆形,它们紧密连接形成一线粒体环,环中央是中心粒;线粒体的大小、基质电子密度、嵴的数量和长度都明显强于各级生精细胞;核前端的前顶体囊沿细胞长轴向前伸长,形成前顶体;以后,前顶体内容物进一步浓缩,形成顶体;同时,细胞核染色质高度浓聚,最后整个细胞核被电子致密的均质染色质所充满,但常可见一些电子透明的核泡,细胞质进一步减少并向与顶体相反的方向流动,当尾部向后端生长时,细胞质大部分成为残留体而被排弃,仅留一薄层细胞质围绕着中段的线粒体(图版I:9)。

2.2 成熟精子的超微结构 中国淡水蛭的精子为鞭毛型精子,可分为头部、中段和尾部三部分。头部长约 $3.8\mu\text{m}$,由顶体复合体和细胞核组成。顶体复合体位于最前端,其结构独特,由

顶体帽、顶体棒和亚顶体腔三者构成(图版 I : 10)。顶体帽呈“⊥”形,端部为棒状(长约 $2.0 \mu\text{m}$,径长约 $0.25 \mu\text{m}$)基部为圆碟状(径长约 $0.7 \mu\text{m}$)。亚顶体腔分布着电子密度较高的物质。顶体棒贯穿于顶体帽中央的亚顶体腔,基部与核有一段距离。细胞核呈近圆形,径长约为 $1.8 \mu\text{m} \times 2.0 \mu\text{m}$ 。核内染色质高度凝聚使核成一致密物,在一些切面上可见电子透明的核泡。核前端略凹,核后端有一“V”字形浅沟,为植入窝。核膜不呈波纹状,但核外的质膜常呈波纹状(图版 II : 1)。中段较短,包括线粒体环和中心粒复合体。中心粒复合体包括互相垂直的近远端两个中心粒。线粒体环由 5 个(图版 II 2)或 4 个(图版 II 3)椭圆形的线粒体聚结在一起组成,线粒体切面的径长约 $1.0 \mu\text{m} \times 0.7 \mu\text{m}$ 。尾部细长(图版 II : 4),由轴丝和质膜组成。轴丝由远端中心粒发出形成,为典型的“9+2”型结构,包围尾鞭的细胞膜不呈波纹状。

3 讨论

3.1 精子的类型 动物精子的形态主要与其受精方式相关,在软体动物中,根据受精方式的不同,大体分原生型精子和修饰型精子两大类。进行体外受精的精子一般都是原生型,进行体内受精的精子一般都为修饰型^[1]。原生型精子的显著特点是:具尾鞭,尾鞭长约 $50 \mu\text{m}$;头部短而宽,核球形或锥形,中段短,构成线粒体环的线粒体数目通常为 4~5 个^[2,9]。一般可以认为,精子类型及精细胞分化的细节,可以反映出种的系统发生和受精方式。

中国淡水蛭的精子结构具典型的原生型精子特征。本文观察的中国淡水蛭的精子形态与其它种类精子相比存在较大的差异,主要表现在头部的外形构造上。由顶体帽、顶体棒和亚顶体腔构成的顶体复合体呈“⊥”形,核呈近圆形,中部相对较短,与头部结合,形成一个紧密的整体。中国淡水蛭的形态结构虽与缢蛭的很相似^[10],但两者在精子结构上存在很大的不同。缢蛭精子的顶体由一很长的顶体柄与顶体

头构成,核呈前后端双凹圆盘状^[3]。

3.2 精细胞核的变化 在精子形成过程中,精细胞核形态变化和染色质浓缩是有种属差异的。Walker^[11]把各种动物精细胞染色质浓缩后的形态归纳为三类:颗粒状、纤维状和片状(晶体状)。本文观察的中国淡水蛭的精细胞核染色质浓缩过程,不同于上述各种类型,而与缢蛭^[3]、青蛤^[5]等的相类似,即由细颗粒状→粗颗粒状→高电子密度的均质物。一般随着染色质浓缩过程的进行,核的形态也发生变化,如青蛤由椭圆形渐渐拉长成圆柱状。但中国淡水蛭精细胞的核形从早期到晚期基本保持同一形态,即近圆形,这种形态一直维持到成熟精子阶段。

3.3 精子发生过程的其它特点 从精原细胞发育成成熟的精子,细胞的体积是逐级递减的,这点与缢蛭^[3]和大珠母贝^[6]一致,但更多的种类往往是精母细胞体积最大^[5,8,9,12]。本文观察到中国淡水蛭的精子具有 4 个或 5 个线粒体,这种同一种类同一个体不同精子间线粒体数目的差异现象很少有报道,其原因和意义尚不明确。

双壳类软体动物的顶体均属简单顶体,由顶体囊变形而成。中国淡水蛭在顶体帽与细胞核间的亚顶体腔中,有一贯穿中央的顶体棒,顶体棒将在顶体反应中起重要作用。这与某些双壳类如贻贝^[7]、美洲牡蛎^[8]、*Musculus discors*、*Dreissena polymorpha*^[9]等具有顶体棒结构一致。

参 考 文 献

- [1] Franzen, A. Comparative morphological investigations into the spermiogenesis among Mollusca. *Zool. Bidr. Uppsala*, 1955, **30**: 399~456.
- [2] Dainels, E. W. et al. Ultrastructure of the spermatozoon of the oyster, *Crassostrea virginica*. *Trans. Am. Microsc. Soc.*, 1971, **90**: 275~282.
- [3] 刘正琮,上官步敏,许振祖. 缢蛭精子发生超微结构的研究. 厦门大学学报, 1990, **29**(1): 81~84.
- [4] 沈亦平,张锡元. 合浦珠母贝精子发生过程的超微结构观察. 武汉大学学报, 1993(6): 123~129.
- [5] 曾志南,李复雪. 青蛤精细胞分化的超微结构研究. 海洋学报, 1991, **13**(4): 547~551.

- [6] 杜晓东. 大珠母贝精子发生超微结构变化的研究. 武汉大学学报, 1996, **42**(2): 219~224.
- [7] Longo, F. J., E. J. Dornfeld. The fine structure of spermatid differentiation in the mussle, *Mytilus edulis*. *J. Ultrastruct. Res.*, 1967, **20**: 275~282.
- [8] Galtsoff, P. S., D. E. Philpott. Ultrastructure of the spermatozoon of the oyster, *Crassostrea virginica*. *J. Ultrastruct. Res.*, 1960, **3**: 241~253.
- [9] Franzen, A. Ultrastructural studies of spermatozoa in three bivalvia species with notes on evolution of elongated sperm nucleus in primitive spermatozoa. *Gamete Res.*, 1983, **7**: 199~214.
- [10] 饶小珍, 陈寅山, 许友勤. 中国淡水蛭的形态学研究. 福建师范大学学报, 1998, **14**(4): 71~75.
- [11] Walker, M. H. Comparative Spermatology. New York: Academic Press, 1970. 383~391.
- [12] Hodgson, A. N., R. T. F. Bernard. A comparison of the structure of the spermatozoa and spermatogenesis of 16 species of *Patellid iimpe*(Mollusca). *J. Morph.*, 1988, **195**: 205~223.

图版 I 说明 (Explanation of Plate I)

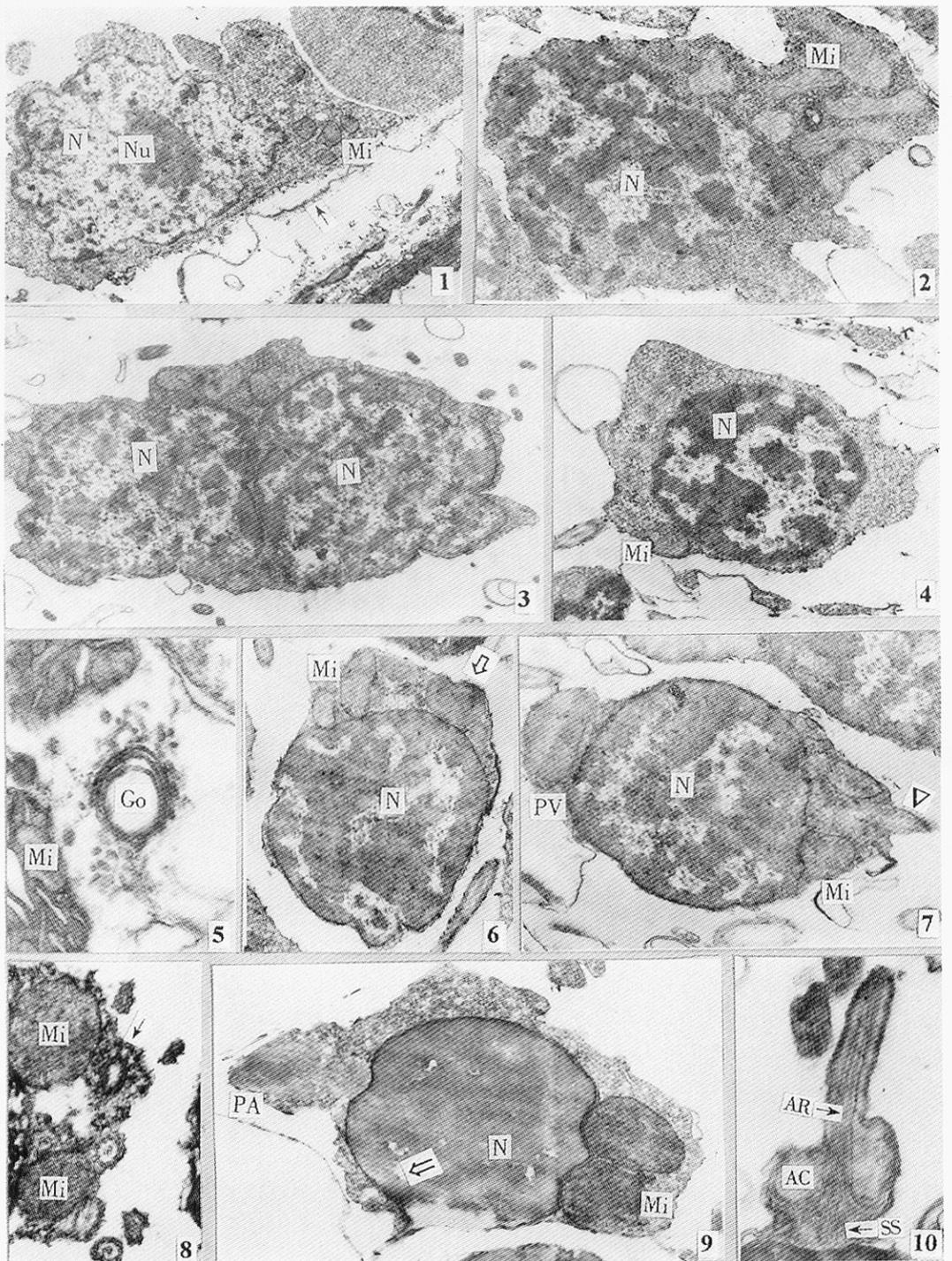
1. 精原细胞 (spermatogonium) × 9 530 ; 2. 初级精母细胞 (primary spermatocyte) × 15 500 ; 3. 双核期次级精母细胞 (secondary spermatocyte of binucleate phase) × 11 700 ; 4. 次级精母细胞 (secondary spermatocyte) × 13 300 ; 5. 精母细胞期的高尔基体 (golgi of spermatocyte phase) × 35 900 ; 6. 早期精细胞 (spermatid at early stage) × 15 000 ; 7. 中期精细胞 (spermatid at medial stage) × 19 600 ; 8. 移至核后端的中心粒 (↑) centriole transferring to the rear of nucleus × 26 570 ; 9. 晚期精细胞 (spermatid at post stage) × 21 350 ; 10. 顶体复合体纵切 (the longitudinal section of acrosomal complex) × 34 220

图版 II 说明 (Explanation of Plate II)

1. 精子头部及中段纵切 (the longitudinal section of sperm head and middle piece) × 26 000 ; 2. 精子中段横切示 5 个线粒体 (the cross section of middle piece, showing five mitochondria) × 24 450 ; 3. 精子中段横切示 4 个线粒体 (the cross section of middle piece, showing four mitochondria) × 33 450 ; 4. 精子纵切示尾部鞭毛 (the longitudinal section of sperm, showing flagellum of tail) × 10 900

N 细胞核 (nucleus); Nu 核仁 (nucleolus); Mi 线粒体 (mitochondria); ↑ 基膜 (basal membrane); Go 高尔基体 (golgi body); ⇨ 前顶体颗粒集合体 (proacrosomal granule body) △ 鞭毛 (flagellum); PV 前顶体囊 (proacrosomal vesicle); PA 前顶体 (proacrosome); ↑ 核泡 (nuclear vesicle); AR 顶体棒 (acrosomal rod); AC 顶体帽 (acrosomal cap); SS 亚顶体腔 (subacrosomal space); A 顶体复合体 (acrosome); IF 植入窝 (implantation fossa)

RAO Xiao-Zhen *et al.*: Ultrastructural Studies on Spermatogenesis of *Novaculina chinensis*



图版说明见文后