

秀丽白虾精子发生的研究*

黄海霞 谈奇坤 郭延平

(安徽师范大学生物学系 芜湖 241000)

摘要: 利用透射电镜观察秀丽白虾的精子发生,并根据染色质及细胞形态的变化将精子发生的全过程划分为五个时期,即精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精细胞和精子。在精子发生过程中,细胞器经历了由少到多,到最后解体特化的过程。晚期精细胞中出现单个中心粒,但在成熟精子中消失。棘突由片层复合体衍生物汇集并延伸而成。染色质在精原细胞中为部分异固缩,在精母细胞中高度凝聚为染色体,在精细胞及精子中为均匀非致密态。减数分裂同步率较高。成熟精子中帽状体和棘突构成顶体复合体。

关键词: 秀丽白虾;精子发生;超微结构

中图分类号: Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2001)02-02-05

Spermatogenesis of Freshwater Shrimp *Exopalaemon modestus*

HUANG Hai-Xia TAN Qi-Kun GUO Yan-Ping

(Department of Biology, Anhui Normal University Wuhu 241000, China)

Abstract: The spermatogenesis of freshwater shrimp, *Exopalaemon modestus* was studied with transmission electron microscope. According to the change of chromatin and morphology of cells, the spermatogenesis could be divided into five stages: spermatogonium, primary spermatocyte, secondary spermatocyte, spermatid and spermatozoon. During the whole process, organelles undergo the change from few to more, then to disintegration. A single centriole appears at the late stage of spermatid. The lamellar complex disintegrate and protrude outward to form the spike. Chromatin heteropycnotic partly in spermatogonium, then become highly coacervate to form chromosome at the stage of spermatid and at last decondense at the stage of spermatozoon. The cap-shaped body and the spike comprise the acrosomal complex. The meiosis is highly synchronous.

Key words: *Exopalaemon modestus*; Spermatogenesis; Ultrastructure

十足目动物精子高度特化,精子发生过程复杂。对虾部和真虾部精子同属无鞭毛不运动型,但两者在结构、形成和功能上有着显著差别^[1]。国内外学者对对虾部精子发生做了较为深入的研究^[2~4],而有关真虾部精子发生的研究却略显不足,有许多问题尚未解决^[5,6]。秀丽白虾(*Exopalaemon modestus*)是真虾部的一种重要经济虾类,是人们喜食的水产品。有关其生

殖细胞的发生迄今尚未见报道,作者近年研究了秀丽白虾的精子发生过程,现予以报道。

* 安徽省教委自然科学基金资助项目(No.96JL0033);

第一作者简介 黄海霞,女,25岁,硕士研究生;研究方向:动物学;现通讯地址:上海第二医科大学 2000 博,200023;

收稿日期:1999-09-20,修回日期:2000-12-15

1 材料与方法

雄性秀丽白虾成熟个体于 1997 年 6 月至 1998 年 5 月采自巢湖。取出精巢及输精管,切成小块。透射电镜材料以 2.5% 戊二醛和 1% 锇酸双固定, Epon 812 包埋, LKB 型超薄切片机切片。醋酸铀和柠檬酸铅双重染色, 日立 H-600 透射电镜观察并摄影。细胞化学材料以冷丙酮固定, 常规石蜡包埋, Gomori-CoS 法显示碱性磷酸酶, Gomori-PbS 法显示酸性磷酸酶。

2 结果

2.1 精原细胞 秀丽白虾的精原细胞因发育程度的不同可大致分为两种类型。I 型为原始型精原细胞, 形态不规则, 个体较小, 直径为 $9 \sim 11 \mu\text{m}$, 胞核椭圆形, 核径 $6 \sim 8 \mu\text{m}$, 核中常见染色质的异固缩。胞质较暗, 胞器少, 内质网膨大成池, 线粒体大, 嵴少(图版 I:1)。II 型为成熟型精原细胞, 由原始型精原细胞经多次分裂产生, 细胞椭圆形, 个体较大, 直径约 $13 \sim 14 \mu\text{m}$, 核径约 $9 \sim 10 \mu\text{m}$ 。核膜多处呈池状, 内缘分布有电子致密颗粒。胞质中内质网池断裂为小泡, 围绕胞核呈索状排列(图版 I:2)。

2.2 初级精母细胞 在最初阶段, 初级精母细胞在大小和细胞学特征上与成熟型精原细胞相似。随着细胞的进一步发育, 胞体明显变大, 直径约 $19 \sim 20 \mu\text{m}$ (图版 I:3)。胞质中内质网小泡增多, 大小形态不一, 以滑面内质网为主, 使胞质囊泡化。外质中分布着多泡体、高尔基体和线粒体, 靠核的一侧由许多碎小膜泡紧密聚合形成海绵体样膜泡聚合体(图版 I:4)。核质逐渐变得电子透明, 染色质开始凝聚, 同源染色体开始配对, 多数细胞核中可见许多短棒状 SC 片断, 说明已形成完整的联会复合体(图版 I:3,5), 细胞处于偶线期或粗线期。片断侧轴间常相互缠绕, 形成互锁现象, 表明秀丽白虾初级精母细胞以多起点方式形成联会复合体, 减数分裂同步率较高。

2.3 次级精母细胞 次级精母细胞为椭圆形, 比初级精母细胞小, 直径约 $15 \sim 16 \mu\text{m}$ 。核中染

色质明显减少。前期 II 末, 核膜多处解体, 核膜内缘的电子致密颗粒进入胞质, 胞质中充满内质网小泡, 线粒体、膜泡聚合体、高尔基体分布在外质区域(图版 I:6)。常可观察到减数分裂中期 II 时相: 核膜完全消失, 染色体排列在赤道板上, 纺锤丝牵引着染色体汇于细胞两极(图版 I:7)。

2.4 精细胞 早期精细胞体积较小, 直径为 $10 \sim 11 \mu\text{m}$ 。发育过程中, 细胞质减少, 使核质比增大。胞质中部分线粒体和高尔基体开始解体形成梯状的片层复合体: 两平行膜间等距离横向分布有薄片状物(图版 I:8,9)。内质网小泡数量明显减少, 膜泡聚合体消失, 细胞一端边缘分布有圆形小泡。核膜不规则, 多呈锯齿状(图版 I:10)。

中期精细胞核的一侧出现空囊区, 核物质向空囊区对侧移动浓缩, 同时胞质亦随之发生同向流动, 结果将精细胞分为核质两极。核极包括不规则的半圆形细胞核以及空囊区上覆盖的一薄层细胞质。质极呈帽状半包围核极, 细胞底部的圆形小泡相互聚合形成一个大的电子致密球(图版 II:1)。

晚期精细胞核膜收缩, 核空泡被排出。线粒体和高尔基体继续解体成为片层复合体。质极电子致密球消失, 出现大量不含基质的小泡, 近核膜处为不规则膜性结构, 其中可见一大的多泡体(图版 II:2,2a)。核极由中间开始凹陷, 质极由中间开始外突, 质极中心大量不规则膜性结构中出现单个中心粒, 由九对双联体微管构成, 周围有空晕与胞质形成明显分界(图版 II:3,3a)。核质交界处核膜多呈池状, 有部分核膜向胞质外凸, 类似胞吐过程在胞质中形成双层膜泡(图版 II:4)。片层结构进一步解体, 等距薄片物质从两侧平行膜中滑出并聚集, 而残留的平行膜则相互融合形成不含基质的膜泡(图版 II:5)。

2.5 精子 晚期精细胞在精巢中进一步发育, 从片层结构平行膜中滑出的薄片沉积在质极底部侧缘, 呈纤丝状, 并向中央汇集延伸, 形成短的棘突(图版 II:6), 胞质呈帽状半包围精核, 其

中充满不含基质的膜泡,而中心粒、多泡体、线粒体等细胞器均消失(图版 II:7)。未成熟精子在输精管内转运的过程中,短棘突进一步向外延伸形成长约 $6 \sim 7 \mu\text{m}$ 的完整棘突。核凹面核膜消失,仅被质膜,质膜多处内陷并吞噬输精管中的泡状分泌物,在质膜内缘形成电子密度较高的吞噬泡。常可见吞噬泡在核中运输至胞质处,并浓缩成高电子致密泡,在棘突基部亦有少量分布;核质交界处核膜多处解体,为不规则池状(图版 II:8)。成熟精子由单一棘突和主体部组成(图版 II:9)。主体部又可细分为精核和帽状体。帽状体周缘分布有大量高电子密度的小泡。放射纤丝位于帽状体底部,帽状体呈 Gomori-PbS 反应阳性。棘突由纤丝汇聚而成,在结构上与帽状体中的放射状纤丝是连续的,棘突亦呈 Gomori-PbS 反应阳性(图版 II:10)。精核电子密度较低,其凹面电子密度较高的吞噬泡为 Gomori-CoS 反应阳性(图版 II:11),帽状体与棘突构成顶体复合体。

3 讨论

3.1 核中泡囊的形成及作用 成熟精子核内存在着电子密度较高的泡囊,这是精子成熟过程中胞吞作用的结果。这与 Koehler 对卑湿小长臂虾 (*Palaemonetes paludosus*) 的观察结果一致^[5],而不同于日本沼虾精子核膜在收缩过程中分割核质而形成核内泡状带^[6]。Koehler 认为精子核凹面所含的泡囊可能是一种顶体物质。而王玉凤等通过酸性磷酸酶定位反应发现顶体的功能部位在棘突而非精子凹面^[7]。作者在对秀丽白虾的研究中亦有类似发现,说明这些泡囊不是顶体物质。相反,这些吞噬泡呈 Gomori-CoS 反应阳性,说明含有碱性磷酸酶,推测这些小泡与物质的吸收和转运有关。另外,还发现这些吞噬泡可运送至胞质,形成高电子密度膜泡。这些膜泡具有酸性磷酸酶活性,说明帽状体周缘的小泡是一种顶体颗粒,而精核凹面的小泡却只与物质吸收和转运有关。

3.2 棘突的形成及作用 游泳亚目精子棘突由具横纹的纤丝构成。Koehler 认为其起源于

精细胞质中大量片层结构^[5]。而赵云龙在对日本沼虾的研究中未发现片层复合体,认为棘突是由内质网及核内排出物共同组建的^[6]。本文研究结果与 Koehler 观点一致:棘突由片层复合体中的薄片层逐渐汇集延伸而成。

单肢虾和对虾的棘突已被证明为顶体复合体的一部分^[2,10,11]。但真虾部精子棘突的功能定位却一直未得到解决。Lynn 等观察到罗氏沼虾受精过程中,棘突能引导精子入卵^[10]。王玉凤亦有相同发现并认为罗氏沼虾精子棘突具顶体功能^[7]。本研究发现秀丽白虾精子棘突部呈 Gomori-PbS 反应阳性,在功能上具顶体特性。Yasuzumi 等和 Kaye 等均推测形成棘突的片层结构可能来源于高尔基体和线粒体^[11,12]。杨万喜等在对日本沼虾的研究中亦证实高尔基体和线粒体一起形成片层复合体并提出了顶体复合体的概念^[13]。秀丽白虾精细胞中的片层结构也来源于线粒体和高尔基体,说明棘突在起源上具顶体特性。综上所述,秀丽白虾和日本沼虾一样,其棘突和帽状体共同组成顶体复合体。推测顶体复合体兼具弯曲运动和穿透卵膜的功能。在受精过程中,由主体部吸附于卵子表面,然后主体部侧面(即帽状体部)接触卵膜并释放其中顶体酶样物质溶解卵膜,最后棘突弯曲,逐渐成为顶端,牵引精子入卵。

成熟精子中不在线粒体,这就存在着能量供给上的矛盾。无脊椎动物精子中多存在着高度变形的线粒体衍生物,为精子运动提供能量^[14]。本研究发现:秀丽白虾精子发生中,线粒体发生解体并参与形成片层结构,然后片层结构进一步解体形成棘突。McCroan 认为这种线粒体的衍生物具有与正常线粒体相同的功能,可提供精子入卵过程中棘突所需能量^[15]。杨万喜在对日本沼虾的研究中亦有类似报道^[13]。在精子发生过程中,线粒体虽经历了形态上的多次解体,但其基本功能单位却未曾改变,这种功能单位参与棘突的形成,并成为棘突弯曲和牵引精子入卵的能量来源。

3.3 细胞器的变化 在精子发生过程中,细胞器的种类及形态在不同阶段有较大差异。在精

原细胞中,有膨大的线粒体和内质网池。初级精母细胞中,内质网池断裂为诸多内质网小泡,线粒体小,同时胞质中出现了高尔基体和多泡体。次级精母细胞中充满内质网小泡。精细胞中各类细胞器均呈退化趋势,晚期精细胞出现单个中心粒。成熟精子中无细胞器存在。初级精母细胞期产生的膜泡聚合体可能指导后来细胞极性的生成和细胞形态的变化。但中心粒的生成及消失机制尚有待于进一步研究。高尔基体成熟面分泌小泡,多泡体作为溶酶体的变异体,其基质中含有酸性磷酸酶活性物质,这两类细胞器可能参与了顶体物质的形成。

3.4 减数分裂的同步性 有关甲壳动物精子发生过程中减数分裂核相变化的电镜观察,国内外学者研究较少^[16]。对于电镜下不同时期生精细胞的区分多以细胞在生精小管中的相对位置和细胞的大小等物理特性为依据,本文通过对精母细胞减数分裂超微形态的观察,以染色体的形态特征为划分标准,发现初级精母细胞核中有典型的联会复合体,且以多起点方式复制。次级精母细胞多处于减数分裂中期Ⅱ,精子发生过程中同一发育阶段的细胞均呈现相同时相,说明减数分裂同步率较高,且在前期Ⅰ的偶线期和粗线期以及中期Ⅱ停留时间较长,这与邱高峰对日本沼虾的染色体及核型的分析结果基本一致^[17]。

参 考 文 献

- [1] 王艺磊,张子平,李少菁. 甲壳动物精子学研究概况Ⅱ: 精子发生与精子的生化组成. 动物学杂志, 1998, 33(4): 52 ~ 57.
- [2] Kleve, M. G., A. I. Yudin, W. H. Clark. Fine structure of the unistellate sperm of the shrimp, *Sicyonia ingentis* (Natanneia). *Tissue Cell*, 1980, 12(1): 29 ~ 45.
- [3] 洪水根,李祺福,郭永刚. 斑节对虾精子发生的超微结构. 动物学报, 1998, 44(1): 1 ~ 4.
- [4] 王艺磊等. 长毛对虾精子形成的超微结构. 海洋与湖沼, 1998, 29(16): 582 ~ 587.
- [5] Koehler, L. D. A unique case of cytodifferentiation: spermiogenesis of the prawn, *Palaemonetes paludosus*. *J. Ultrastruct. Res.*, 1979, 69: 109 ~ 120.
- [6] 赵云龙, 堵南山, 赖伟. 日本沼虾精子发生的研究. 动物学报, 1997, 43(3): 243 ~ 248.
- [7] Wang, Y. F., N. S. Du., W. Lai. Cytological study on the mechanism of fertilization in *Macrobrachium rosenbergii* (Crustacea, Decapoda). *Acta Zoologica Sinica*, 1998, 44(2): 195 ~ 202.
- [8] Yudin, A. I., W. H. Clark, Jr., M. G. Kleve. An arosome reaction in natantian shrimp. *J. Exp. Zool.*, 1979, 210: 569 ~ 574.
- [9] Clark, W. H. Jr., J. W. Lynn, A. I. Yudin. Morphology of the cortical reaction in the eggs of *Penaeus aztecus*. *Biol. Bull.*, 1980(158): 175 ~ 186.
- [10] Lynn, J. W., W. H. Clark, Jr. A morphological examination of sperm-egg interaction in the fresh water prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Biol. Bull.*, 1983(164): 446 ~ 458.
- [11] Kaye, G. I., G. D. Pappas, G. Yasuajumi *et al.* The distribution and form of the endoplasmic reticulum during spermatogenesis in the crayfish, *Cambaroides japonicus*. *Z. Zellforsch.*, 1961(53): 159 ~ 171.
- [12] Yasuajumi, G., G. I. Kaye, G. D. Pappas *et al.* Nuclear and cytoplasmic differentiation in developing sperm of the crayfish, *Cambaroides japonicus*. *Z. Zellforschung*, 1961(53): 141 ~ 158.
- [13] 杨万喜, 堵南山, 赖伟. 日本沼虾高尔基体在精子发生过程中的变化. 动物学报, 1998, 44(4): 377 ~ 383.
- [14] Longo, F. J., E. Anderson. Gametogenesis. In: J. Lash, J. R. Whittaker eds. *Concepts of Development*. Sinauer Associates, Inc. Sunderland Mass, 1974. 3 ~ 47.
- [15] McCroan, J. E. Jr. Spermatogenesis in the crayfish, *Cambarus virilis*, with special reference to Golgi material and mitochondria. *Cytologia*, 1940(11): 136 ~ 155.
- [16] Arsenault, A. L., R. E. Claienburg. Spermiogenesis in the shrimp, *Crangon septempinosus*, Say. *Can. J. Zool.*, 1979(57): 486 ~ 498.
- [17] 邱高峰, 堵南山. 日本沼虾染色体及其核型的研究. 海洋与湖沼, 1994, 25(5): 493 ~ 497.

图版 I (Plate I) 说明

1. I型精原细胞, 箭头示内质网膨大成池(spermatogonium I, arrow notes that the endoplasmic reticulum infate to form the pool) × 3 600; 2. II型精原细胞(spermatogonium II) × 2 700; 3. 初级精母细胞(primary spermatocyte) × 3 150; 4. 初级精母细胞中的部分细胞器(part of organelles in primary spermatocyte) × 1 530; 5. 联会复合体(synaptonemal complex) × 9 000; 6. 次级精母细胞(secondary spermatocyte) × 4 500; 7. 减数分裂中期Ⅱ时相(metaphase II) × 4 500; 8. 早期精细胞(early spermatid) × 3 600; 9. 高尔基体形成片层结构(the golgi

are forming the lamellar stack) $\times 27\ 000$; 10. 线粒体形成片层结构(the mitochondria are forming the lamellar stack) $\times 7\ 200$

图版 I (Plate II) 说明

1. 中期精细胞(middle spermatid) $\times 4\ 500$; 2~5. 晚期精细胞(late spermatid); 2, 2a. 示核空泡的排出和多泡体(noting the ejection of nuclear vesicle and the multivesicular body) $\times 4\ 500$, $\times 15\ 300$; 3, 3a. 示中心粒(noting the centriole) $\times 4\ 500$, $\times 72\ 000$; 4. 核膜形成双层膜泡(nuclear membrane forming double membrana vesicle) $\times 15\ 300$; 5. 片层结构解体(disintegration of lamellar complex) $\times 18\ 000$; 6. 未成熟精子(immature sperm) $\times 3\ 600$; 7. 未成熟精子的帽状体部(cap-shaped body of immature sperm) $\times 10\ 800$; 8. 成熟精子纵切, 示核凹面的吞噬作用及吞噬泡在核内的运输($\Rightarrow$) [a longitudinal section of mature sperm noting the phagocytosis in the concave side of nucleus and the translation through nucleus($\Rightarrow$)] $\times 5\ 400$; 9. 成熟精子外形(the out look of mature sperm) $\times 5\ 670$; 10. Gomori-CoS 反应, 箭头示阳性反应部位 Gomori-CoS reaction, arrow notes the positive site) $\times 900$; 11. Gomori-PbS 反应, 箭头示阳性反应部位(Gomori-PbS reaction, arrow notes the positive site) $\times 900$

N: 细胞核(nucleus); M: 线粒体(mitochondria); EV: 内质网小泡(endoplasmic reticulum vesicle); SC: 联会复合体(synaptonemal complex); EG: 电子致密颗粒(electric dense granule); MR: 膜环(membrana ring); CH: 染色质(chromatin); MVB: 多泡体(multivesicular body); NM: 核膜(nuclear membrane); NV: 核空泡(nuclear vesicle); C: 中心粒(centriole); G: 高尔基体(golgi); LC: 片层复合体(lamellar complex); GV: 高尔基囊泡(golgi vacuoles); RF: 辐射纤丝(radial fibril); F: 纤丝(fibril); MA: 膜泡聚合体(membrana assemblage); MV: 膜泡(membrana vesicle); SK: 棘突(spike); CB: 帽状体(cap-shaped body); Edv: 电子致密泡(electric dense vesicle); NC: 支持细胞(nurse cell); Edb: 电子致密球(electric dense ball); PM: 质膜(plasma membrane); CP: 细胞质(cytoplasm); PV: 吞噬泡(phagocytic vacuole); SV: 分泌泡(secretory vesicle); MB: 主体部(main body)







