

黑鲷精子发生过程中的超微结构变化

刘雪珠, 石 戈, 王日昕

(浙江海洋学院 海洋科学与技术学院, 浙江 舟山 316004)

摘要:在超微结构上研究了黑鲷(*Sparus macrocephalus*)精子发生过程中细胞形态结构的变化和细胞器的变化规律。观察到在精子发生的不同时期细胞核形态变化、染色质浓缩且由分散向集中分布;线粒体的数目、分布位置及超微结构发生的演变规律及高尔基体和溶酶体等细胞器的行为变化。

关键词:黑鲷(*Sparus macrocephalus*);精子发生;超微结构

中图分类号:Q954.43 文献标识码:A 文章编号:1000-3096(2005)10-0048-06

随着海洋生物发生发育内在机制越来越深入的研究,动物精子发生作为生殖生物学的重要问题受到越来越多学者的研究和评论^[1~3,17]。近几年来,有关硬骨鱼类生殖生物学方面的研究主要涉及以下内容:(1)精子发生的一般过程^[1,7,9,21];(2)精子结构各部分的来源及其演变和在精子发生过程中的作用^[6,7,10~13];(3)性腺和生殖细胞的超微结构^[7,8,10,14~16,22]。黑鲷(*Sparus macrocephalus*)为经济价值较高的鲈形目(Perciformes)鱼类,有关其生殖生物学及进化生物学研究较少^[4]。作者采用透射电镜技术(TEM),对黑鲷的精巢和精液进行观察,探讨其精子发生过程中细胞形态结构的变化规律和细胞器的演变规律及其意义。

1 材料与方法

实验材料于2001年2月至4月先后从舟山定海水产市场购得性成熟的黑鲷7尾。将采得的材料活体解剖,迅速剖开腹部取出整个精巢,滴加pH为7.4的磷酸缓冲液,分前、中、后切取小块组织。含有精液的个体按其腹部取出精液。以上取得的组织块和精液分别置入安培瓶中用2.5%戊二醛(4℃)固定过夜,翌日转入1%锇酸固定2h(戊二醛与锇酸均用0.1 mol/L, pH为7.4的K₂HPO₄-KH₂PO₄缓冲液配制),然后用乙醇梯度脱水,Epon812环氧树脂渗透并包埋,LKB-III型超薄切片机制片(切片厚度为

30~50 nm),醋酸铀及柠檬酸铅双重染色,日立H-600A透射电镜(TEM)观察并拍照。

2 结果

2.1 精原细胞

黑鲷的精原细胞分布于精小囊内,为卵圆形。细胞核较大(核长径约为5 μm,短径约为2 μm),核仁明显,位于靠近核膜侧,核质为分散的匀质,核膜明显,内、外层核膜之间的间隙较小(图1-1);细胞质近核处无拟染色质,为A型生精细胞(SGA)。胞质中有丰富的核糖体颗粒分布,且可清晰见到粗面内质网(图1-1)。核膜与质膜之间的胞质中分布着线粒体,但量较少且没有明显的囊泡状结构(图1-1)。黑鲷精原细胞后期阶段,核内出现部分块状染色质,且在紧贴核膜内侧出现一环带状染色质,在核外周出现若干空泡结构(图1-2)。

精原细胞停止有丝分裂,进入生长期,由它们发育形成初级精母细胞。

收稿日期:2004-03-18;修回日期:2004-08-08

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(398081)

作者简介:刘雪珠(1973-),女,浙江岱山人,讲师,硕士,研究方向:海洋生物学,电话:0580-2994308, E-mail: xuem07@163.com

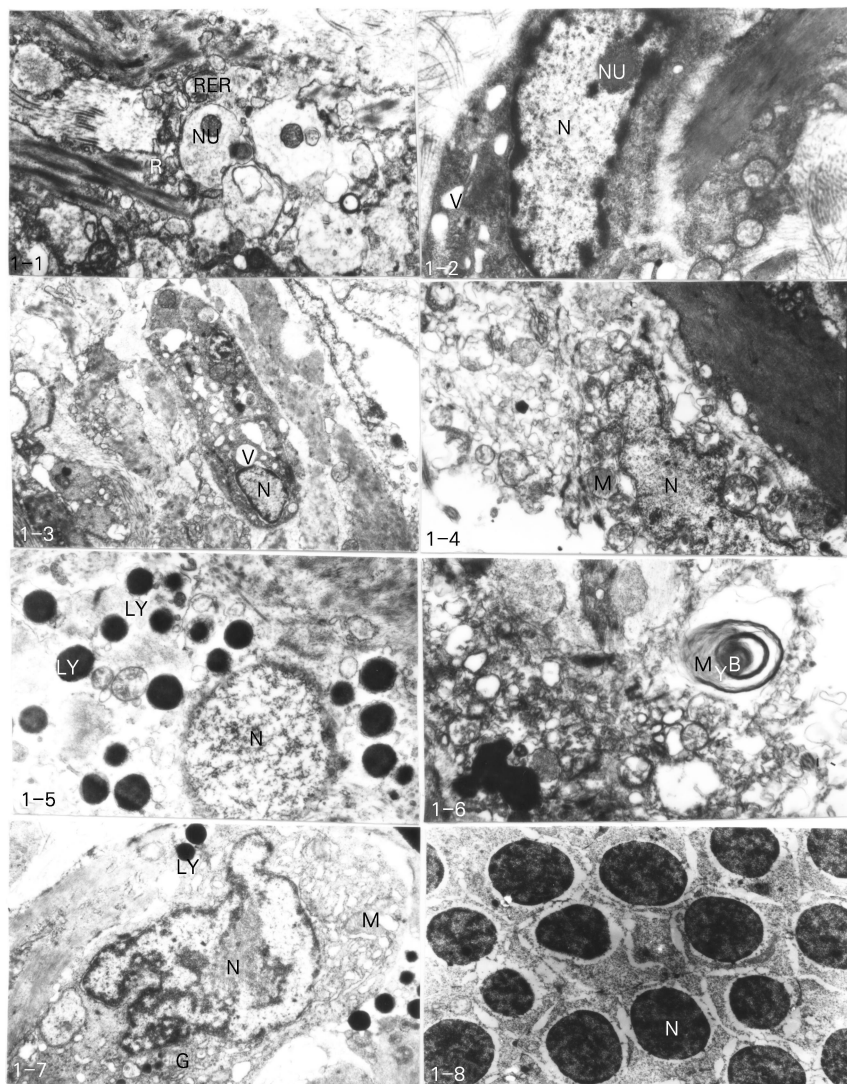


图1 黑鲷精子发生过程中的超微结构 I

Fig.1 The ultrastructure of *Sparus macrocephalus* during spermatogenesis plate I

1-1 精原细胞, 示核仁明显, 胞质中粗面内质网、核糖体 $\times 7\,500$; 1-2 精原细胞, 示染色质近核膜侧带状, 核膜孔均匀分布, 胞质中有空泡 $\times 10\,000$; 1-3 初级精母细胞, 示核周隙, 染色质沿核膜内侧分布, 胞质中囊泡、线粒体内嵴丰富 $\times 5\,000$; 1-4 初级精母细胞, 示核内染色质颗粒状分布, 线粒体分布多且内嵴丰富 $\times 7\,500$; 1-5 初级精母细胞, 示胞质中溶酶体分布多, 线粒体内嵴丰富 $\times 12\,000$; 1-6 初级精母细胞, 示胞质中髓样小体 $\times 12\,000$; 1-7 次级精母细胞, 示细胞核不规则, 核内染色质团块状; 高尔基体、溶酶体, 胞质减少 $\times 7\,500$; 1-8 精细胞早期, 示核内染色质高度浓缩 $\times 4\,000$

1-1 Spermatogonia: showing nucleolus clear in the nucleus, rough endoplasmic reticulum(RER) and ribosome(R) in the cytoplasm $\times 7\,500$; 1-2 Spermatogonia: showing chromatin zonal distributed near the nuclear membrane, nuclear pore well-distributed, vacuole(V) in the cytoplasm $\times 10\,000$; 1-3 Primary spermatocyte: showing nuclear peripheral space clear, chromatin disperse in the inner karyotheca; vesicle(V) and mitochondrion(M) with plentiful cristae in the cytoplasm $\times 5\,000$; 1-4 Primary spermatocyte: showing chromatin in shape of granule, plentiful mitochondrion(M) with developed cristae in the cytoplasm $\times 7\,500$; 1-5 Primary spermatocyte: showing many lysosome(LY) in the cytoplasm, mitochondrion(M) with developed cristae $\times 12\,000$; 1-6 Primary spermatocyte: showing myelinoid body(MB) in the cytoplasm $\times 12\,000$; 1-7 Secondary spermatocyte: showing irregular nucleus(N), chromatin in shape of conglomeration; Golgi body(G) and lysosome(LY) in the cytoplasm and the cytoplasm reduced $\times 7\,500$; 1-8 Spermatids in early stage: showing chromatin condense $\times 4\,000$

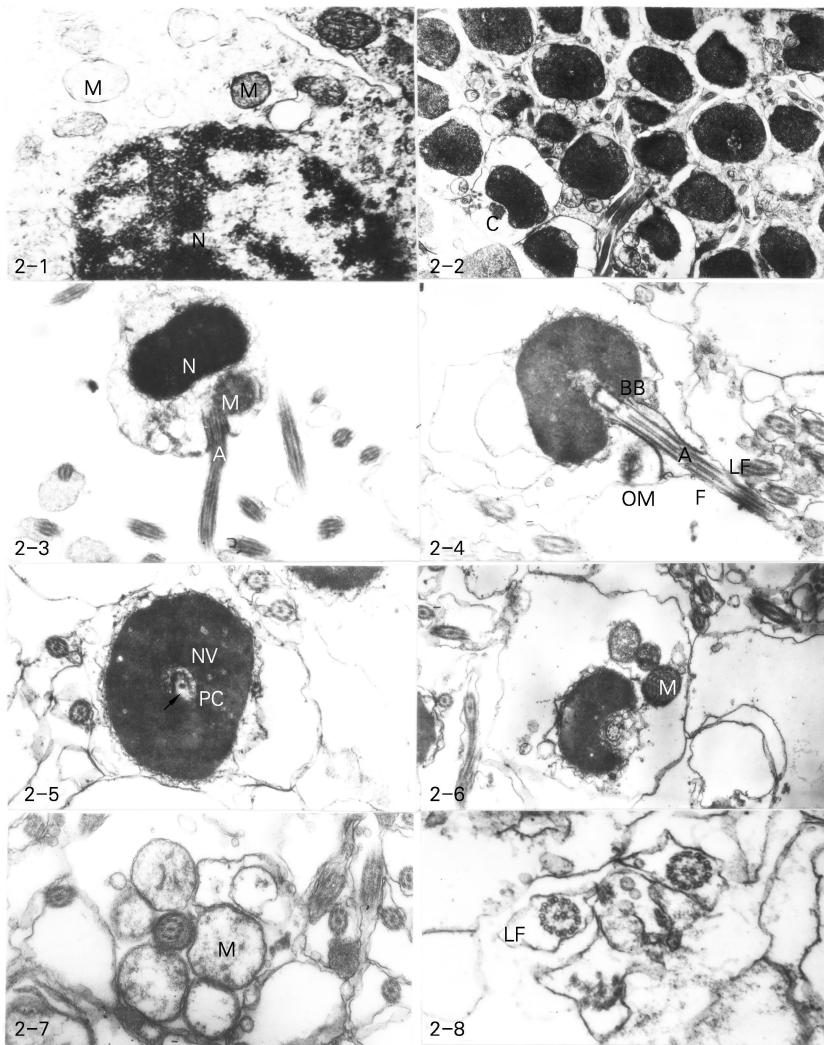


图 2 黑鲷精子发生过程中的超微结构 II

Fig.2 The ultrastructure of *Sparus macrocephalus* during spermatogenesis plate II

2-1 精细胞中期, 示核一端线粒体融合 $\times 25\ 000$; 2-2 精细胞晚期, 示核两端凹陷, 中心粒 $\times 10\ 000$; 2-3 精细胞晚期, 示细胞核两端钝化, 鞭毛由袖套腔伸出 $\times 12\ 000$; 2-4 精子纵切, 示精核、囊泡、中心粒复合体; 轴丝、鞭毛及侧鳍 $\times 12\ 000$; 2-5 精子头部横切, 示核空泡, 近端中心粒腔内的颗粒状结构(箭头示) $\times 25\ 000$; 2-6 精子头部横切, 示线粒体及位于植入窝的基体 $\times 12\ 000$; 2-7 精子中段横切, 示 4 线粒体 $\times 20\ 000$; 2-8 精子尾部横切, 示轴丝“9+2”结构及侧鳍 $\times 10\ 000$

2-1 Spermatids in middle stage: showing mitochondria (M) at one end of nucleus fuse $\times 25\ 000$; 2-2 Spermatids in end stage: showing concave nucleus in both ends and proximal centriole (PC) $\times 10\ 000$; 2-3 Spermatocyte in end stage: showing both ends of nucleus flat, flagellum (F) extending from central space of sleeve $\times 10\ 000$; 2-4 A longitudinal section of the spermatozoon: showing nucleus (N), vesicle (V), centriolar complex; axoneme (A), lateral fin of the flagellum (LF) $\times 12\ 000$; 2-5 A cross section through the spermatozoon's head: showing nuclear vacuole (NV), the big electron-dense particle in the central space of the proximal centriole (cross section) $\times 25\ 000$; 2-6 A cross section of mid-piece: showing mitochondria (M) and the basal body (BB) in implantation fossa $\times 12\ 000$; 2-7 A cross section of mid-piece: showing four mitochondria (M) $\times 20\ 000$; 2-8 A cross section of tail of *Sparus macrocephalus*: showing the structure of “9+2” of the axoneme (A) and lateral fin (LF) $\times 10\ 000$

2.2 初级精母细胞

黑鲷初级精母细胞形态不甚规则。胞核由精原

细胞时期的卵圆形转变为不规则的多角形, 核仁消失 (图 1-3, 1-4); 核内染色质大部分染色质仍以颗粒状

形式存在,小部分聚集成块状,紧帖核内膜有一圈染色质分布;部分区域双层核膜清晰可见,核周隙明显(图 1-3)。胞质中,可观察到线粒体、滑面内质网和粗面内质网等细胞器,核糖体颗粒较多。线粒体数量比精原细胞时期明显增多,内部基质密度增加,内嵴明显比精原细胞时期丰富,并呈极性分布,位于细胞的一端(图 1-4)。胞质中存在较多的透明的空泡,可能是高尔基体分泌的囊泡;溶酶体密度较高,内容物丰富(图 1-5);胞质中还可可见典型的髓样小体(myelinoid body)结构,这是自噬小体(autophagosome)中的物质(如线粒体、内质网等)消化不掉的部分被保留在溶酶体内,形成的环层状的残余小体(residual body)的形状(图 1-6)。

从上述结果可知,黑鲷初级精母细胞时期开始,各种细胞器在数量上明显增加,细胞的生命活动逐渐旺盛,为细胞的进一步发育与分化奠定了物质基础。

2.3 次级精母细胞

黑鲷次级精母细胞为近圆形;核内染色质浓缩聚集成块。胞质中的线粒体数量较少但体积较大,内容物也较丰富;溶酶体活动旺盛,可见正在进行吞噬活动的次级溶酶体和囊状溶酶体,后者体积较大,电子密度高,内含物丰富(图 1-7)。高尔基体形态结构典型,位于近核处,由 3~4 层扁平的膜囊构成,膜囊形状呈弓形,膜囊两端的泡状突起明显可见,并在凸面(顺面, cisface)和凹面(反面, transface)可见有囊泡,凸面的囊泡较大,是分泌泡,其内含物将来形成溶酶体以及细胞内其它结构(图 1-7)。在胞质中未见到内质网等细胞器。

2.4 精细胞

精细胞早期阶段,胞体形状为卵圆形。核膜囊泡化现象明显;核内染色质高度浓缩,大部分已聚集成大的团块状,在所有精细胞中其电子密度最高。大部分细胞质集中于核的一端,核的另一端胞质较少;细胞质之间存在明显的细胞质桥(图 1-8)。胞质中线粒体一部分电子密度高,内嵴发达;另一部分电子密度低的线粒体逐渐解体或被溶酶体所吞噬(图 2-1)。

精细胞中期阶段,核内染色质高度浓缩布满了整个核,核体积明显缩小。同时核前端开始变得略显扁平,核后端开始形成凹陷,形成精子的植入窝。两个中心粒位于下方的核凹陷中,一前一后,相互垂直,形成近端中心粒和远端中心粒,前者位于核凹中间,后者在核凹口处(图 2-2)。胞质已大大减少。

精细胞晚期阶段,一部分细胞质移向核前端并延伸,形成类似顶体的形状。一部分细胞质和远端中

心粒延伸形成的轴丝构成精子的尾部。线粒体围绕着轴丝前段排列(图 2-3)。

2.5 精子

黑鲷精子由头部、中部及尾部(鞭毛)组成。头部的主要结构为细胞核,核扁卵形,染色质致密,其中有核空泡。有些精子核前端有延伸的囊泡(图 2-4)。核的后端有一较深的植入窝(implantation fossa),呈井状,从核后端经核前端陷入核中央。中段的主要结构是中心粒复合体和袖套。黑鲷中心粒复合体由近端中心粒和远端中心粒(基体)的组成,近端中心粒中央腔内侧可看到 1 个粗大的颗粒状物质(图 2-5)。袖套腔较狭窄,鞭毛几乎与袖套内膜紧贴。袖套之中的线粒体分层分布,每层 3~4 个(图 2-6, 2-7)。尾部(鞭毛)较细长。鞭毛的中央结构是轴丝,轴丝具有典型的“9+2”结构。在鞭毛的横切面上,可以观察到轴丝的两侧有侧鳍结构,在侧鳍的基部有电子密度较高的囊泡分布(图 2-8)。

3 讨论

3.1 精细胞核形态变化及意义

精子发生过程中,精核形态变化有种属差异。硬骨鱼类精核的形态结构主要体现在核的形态、染色质的浓缩及分布、核空泡的有无等。黑鲷精细胞核由卵圆形转变为不规则的多角形;精原细胞中核质为分散的匀质,转变为初级精母细胞后核内染色质的浓缩程度明显增加,主要集中于核中央和核膜内侧;精子时期出现核空泡且数目较多。此外,精母细胞早期阶段,内外膜之间的核周隙较小,随着精母细胞的发育,核膜囊泡化在初级精细胞和次级精细胞阶段显著,核孔复合体增多。说明此时期核内各种 RNA 和核糖体通过核孔进入细胞质中,以保证细胞大量合成各类蛋白质所需原料的供应。

3.2 线粒体数目与行为的变化及意义

在精子发生过程中,黑鲷精原细胞时期的线粒体在胞质中的分布分散且数目较少。到初级精母细胞时期线粒体数明显增多,多数线粒体分布于靠近核膜处,线粒体内嵴增加,基质中电子密度增高。线粒体是细胞生命活动的供能者,初级精母细胞时期线粒体数目的增加、内嵴增多及分布位置的改变与细胞的进一步分化有关,从这一时期起,细胞生命活动越来越旺盛,对能量的需求急剧上升。到了次级精母细胞阶段线粒体数目比初级精母细胞时期明显减少,但仍集中分布于细胞一端,主要是通过融合以及积累基质使体积变大,内容物丰富。至精子时期线粒体数量进一

步由多变少,而体积由小变大且嵴更加发达,并其中于核的下方,在袖套中分层排列。这说明线粒体不仅为生精细胞发育提供能量,并且也为精子尾部的活动积蓄所需能量。

3.3 高尔基体及溶酶体的变化及意义

黑鲷精母细胞阶段,除线粒体的行为发生比较剧烈变化以外,高尔基体的行为也发生了较大的变化。在黑鲷初级精母细胞和次级精母细胞时期都可看到大量的大小不同的透明的囊泡;次级精母细胞中见到典型的高尔基基本结构。高尔基体分泌物在许多高等动物的精子发生过程中被认为与顶体物质的形成密切相关^[18~20],这种作用主要通过高尔基体分泌的糖蛋白来完成。黑鲷的精子发生过程中没有形成顶体,高尔基体的分泌活动在硬骨鱼类精子形成过程中起到何种作用,有待于进一步研究。

溶酶体是由高尔基体“分泌”形成的,是一种异质性很强的细胞器,在细胞中以大小不同的内含非均质的囊泡或电子密度极高的致密体的形式存在,其表面有一层界膜。黑鲷的精母细胞胞质中,溶酶体也以囊泡状或致密体的形式存在,初级精母细胞中存在大量的致密体,还观察到典型的环层状的髓样小体的结构。一部分溶酶体在细胞体积的改变及维持细胞正常内环境起到重要的作用,另一部分溶酶体通过吞噬、迁移和融合可能参与精子的形成。在动物界中,高尔基体、溶酶体及线粒体联合形成顶体的证据很多,在甲壳动物中尤其明显^[9];在硬骨鱼中上述3种细胞器在精子形成过程中参与何种结构的形成尚待进一步地深入探讨。

参考文献:

- [1] 洪万树, 张其永, 倪子锦. 西埔湾黄鳍鲷精子发生和形成[J]. 水产学报, 1991, **15**(4): 302– 307.
- [2] 柯才煊, 李复雪. 台湾东风螺精子发生和精子形态的超微结构研究[J]. 动物学报, 1992, **38**(3): 234– 238.
- [3] 林丹军, 尤永隆. 褐菖鲉精细胞晚期的变化及精子结构的研究[J]. 动物学研究, 1998, **19**(15): 359– 366.
- [4] 张筱兰, 丛娇日, 姚斐, 等. 黑鲷成熟精、卵和精子入卵早期过程的初步观察[J]. 海洋湖沼通报, 1998, **4**: 62– 68.
- [5] 杨万喜. 日本沼虾精子在真虾部 Caridea 生殖进化中地位的研究[J]. 东海海洋, 1998, **16**(4): 14– 19.

- [6] 管汀鹭. 金鱼精子鞭毛发生的特点[J]. 动物学报, 1988, **34**(2): 189– 190.
- [7] 管汀鹭, 黄丹青, 黄国屏. 金鱼精巢的细胞构造与精子的发生和形成[J]. 水生生物学报, 1990, **14**(3): 233– 238.
- [8] 卞伟, 阳爱生. 黄尾密鲷性腺发育的研究[J]. 水生生物学报, 1992, **16**(4): 346– 355.
- [9] 张旭晨, 王所安. 细鳞鱼精巢结构和精子发生[J]. 动物学报, 1992, **38**(4): 355– 358.
- [10] 张耀光, 罗泉笙, 钟明超. 长吻鲫精巢及精子结构的研究[J]. 水生生物学报, 1993, **17**(3): 246– 257.
- [11] 尤永隆, 林丹军. 黄颡鱼 (*Pseudobagrus fulvisraco*) 精子的超微结构[J]. 实验生物学报, 1996, **29**(3): 235– 245.
- [12] 尤永隆, 林丹军. 鲤鱼精子超微结构的研究[J]. 动物学报, 1996, **17**(4): 377– 383.
- [13] 尤永隆, 林丹军. 大黄鱼精子的超微结构[J]. 动物学报, 1997, **43**(2): 119– 126.
- [14] 尤永隆, 林丹军. 尼罗罗非鱼精子形成中核内囊泡的释放[J]. 动物学报, 1998, **44**(3): 257– 263.
- [15] 王宏田, 徐永立, 张培军. 牙鲆精子的超显微结构[J]. 海洋科学, 1999, **23**(6): 5– 7.
- [16] 刘筠, 周工健. 红鲫(♀) × 湘江野鲤(♂)杂交一代生殖腺的研究[J]. 水生生物学报, 1986, **10**(2): 1– 108.
- [17] Billard R. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species[J]. **Reprod Nutr Develop**, 1986, **26**(4): 877– 892.
- [18] Browler L W. Development Biology[M]. USA: CBS College Publishing, 1984. 217– 419.
- [19] Hermo L, Rambourg A, Clermont Y. Three dimensional architecture of the cortical region of the Golgi apparatus[J]. **The American Journal of Anatomy**, 1980, **157**: 357– 373.
- [20] Tang X M, Lalli M F, Clermont Y. A cytochemical study of the Golgi apparatus of the spermatid during spermiogenesis in the rat[J]. **Am J anat**, 1982, **163**: 283– 294.
- [21] Grier H J. Cellular organization of the testes and spermatogenesis in fishes[J]. **Am Zool**, 1981, **21**: 345– 357.
- [22] Poirier G R, Nicholson N. Fine structure of the testicular spermatozoa from the channel catfish, *Ictalurus punctatus*[J]. **J Ultrastruct Res**, 1982, **80**: 104– 110.

Ultrastructural changes in *Sparus macrocephalus* cells during spermatogenesis

LIU Xue-zhu, SHI Ge, WANG Rixin

(Ocean Science and Technology College, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316004, China)

Received: Mar., 18, 2004

Key words: *Sparus macrocephalus*; spermatogenesis; ultrastructure

Abstract: This paper discussed morphological and structural changes of cell during spermatogenesis of *Sparus macrocephalus* by transmission electron microscopy. The characteristics of fine structure of spermatogenesis cells and sperms in various orders are described in detail. The result indicated that the nucleus form and the concentration of chromatin, the numbers, the distribution position and the ultrastructure of mitochondria changed during spermatogenesis. In addition, the secretion of Golgi body and morphological differentiation of lysosome were reported.

(本文编辑: 刘珊珊)