

中华绒螯蟹精子的研究

II. 精子发生

堵南山 薛鲁征* 赖伟
(华东师范大学, 上海)

提要 对中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 精子发生全过程的电镜观察表明: 精原细胞较大, 卵圆形, 线粒体和内质网小泡集中在细胞一端, 形成“线粒体区”; 初级精母细胞多边形, 拟染色体包围中心粒形成中心粒附属物; 早期精细胞中内质网小泡分泌产生原顶体颗粒, 中期聚合成大的原顶体囊; 细胞核逐渐变化而呈杯状, 并包裹顶体囊, 形成精子; 随着精子的成熟, 顶体进一步分化; 成熟时, 核杯向外伸出辐射臂。

近年来, 由于电镜的运用推动了从超微结构水平研究十足类甲壳动物的精子发生^[4,6,7,9,12-15], 但由于这类精子高度特化, 尚有许多问题亟待解决。我们在对中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 精子的形态、超微结构和顶体反应进行研究的同时^[2,3], 也研究了精子发生。本文主要对精子发生过程作出分析。

一、材料与方法

中华绒螯蟹雄体根据其精巢发育周期¹⁾ 于1984年7月至1985年1月取自江苏省吴县东山镇与上海市市场(每月取一次)。

迅速取出精巢, 切成小块, 以2.5%戊二醛和1%锇酸双固定(两者均用0.1mol/L, pH 7.2磷酸缓冲液配制), Epon 812包埋, LKB-5超薄切片机切片, 醋酸铀和柠檬酸铅双重染色, JEM-100 CX II透射电镜观察。

二、观察结果

1. 精原细胞 圆形或椭圆形, 直径约11.3 μ m (图版 I:1)。核(N)呈圆形或卵圆形, 直径约8 μ m, 内有一个电子密度高的核仁(Ni); 染色质分散, 部分聚集成小团块, 附着在核膜内面。线粒体(M)、内质网和拟染色体(CB)明显地集中在细胞一端的细胞质中, 形成一个“线粒体区”(mitochondria zone, MZ); 但在胞质的其他部位还能看到少量零散的内质网小泡(EV)。线粒体多呈卵圆形或长棒状, 嵴与线粒体长轴成斜向排列。拟染色体为致密小颗粒所组成的团块。胞质中不见典型的高尔基体。多数核糖体颗粒均匀分布在细胞质中。可看到细胞质膜的局部消失以及相邻细胞之间形成的细胞间桥。图版 I:2 显示了精原细胞有丝分裂的中期相, 其染色体(Ch)呈短棒状或颗粒状^[4]。

* 现在中国科学院上海昆虫研究所工作。

收稿日期: 1986年4月20日。

1) 堵南山、薛鲁征、赖伟, 1986. 中华绒螯蟹雄性生殖系统的组织学研究。(待发表)

2. 初级精母细胞 多边形,较精原细胞小,直径约 6—11 μm (图版 I:3)。相邻的初级精母细胞间或初级精母细胞与营养细胞 (NC) 间质膜局部消失,形成细胞间桥 (图版 I:4)。初级精母细胞核呈卵圆形或长卵圆形,直径约 5—9 μm ;染色质集成团块,不均匀地散布在核内;核仁大而明显。线粒体区消失,线粒体和内质网小泡均匀分布,前者数量较多,呈颗粒状、短棒状或哑铃状,嵴发达,斜向或弯曲排列;后者明显增多,并略扩张呈不规则的小池状。许多游离核糖体颗粒散布在胞质中。拟染色体包围中心粒形成中心粒附属物 (centriole appendage, CA) (图版 I:3, 4)。

3. 次级精母细胞 多边形。核卵圆形,核内染色质颗粒较为密集。线粒体和内质网小泡都比初级精母细胞少,但小泡的体积有所增大。附着在内质网小泡外和散布在胞质中的核糖体数量都下降。在次级精母细胞进行减数分裂 II 前,胞质中线粒体和内质网小泡有朝细胞两极分布的趋势 (图版 I:5),并可确定核内染色体数目已减半。

4. 精细胞及其分化过程 精细胞呈圆形或长圆形,直径约 6.5 μm 。核比上述各阶段都小,直径约 3.8 μm ,圆形或卵圆形,染色质丝状,均匀弥散 (图版 I:6)。线粒体较少,颗粒状或短棒状,嵴斜向或平行于线粒体长轴,有的甚至呈同心圆状排列。内质网小泡数量增加,滑面和粗面内质网小泡同时存在。游离核糖体颗粒有所增加。精细胞逐渐分化,形成精子,形成过程可分三个阶段。

早期:细胞形状不规则。核内染色质由均匀弥散 (图版 I:6) 逐渐聚合成致密的团块,多数附着于核膜内面,少量散布在核中央 (图版 I:7)。线粒体数量有所减少,而内质网小泡和核糖体则大大增加,内质网小泡的形状变得更不规则。此期精细胞的最大特点是胞质内出现由粗面内质网小泡产生的致密圆形颗粒 (图版 I:6),即原顶体颗粒 (proacrosomal granule, PG)。

中期:原顶体颗粒聚合为一个大的原顶体囊 (proacrosomal vesicle, PV) (图版 I:7);线粒体和内质网小泡明显减少,两者一部分形成环状膜片层体 (annulate lamellar body, ALB);胞质中尚存在游离核糖体。随后精细胞卸弃大部分胞质,核膜与质膜相互贴合;此时核内染色质变得均匀而电子密度较低。核和原顶体囊相互靠拢,前者逐渐包裹后者 (图版 II:8),两者间出现膜复合体 (membrane complex, MC);膜复合体中常包有线粒体。随着核和膜复合体包裹原顶体囊,核变得越来越扁,膜复合体也被压缩成薄层 (图版 II:9)。

后期:核逐渐呈杯状;膜复合体越来越薄,近核面与核膜相贴合。原顶体囊的近核面中央内凹并逐渐向前伸展;由膜复合体产生低电子密度的物质一部分伸入内凹中形成顶体管 (AT) 的中央管部分,另一部分则在膜复合体与原顶体囊之间形成顶体管的外周延伸部分,其中含有微丝状结构 (图版 II:10)。中央管中存在中心粒 (C),中央管前端开始分化出头帽 (AC),但其形状与成熟精子不同,无中央圆锥状突起 (图版 II:11),片层结构 (LS) 已隐约可见,丝状层和中间层虽尚未出现,但原顶体囊已基本分化成顶体囊。整个精细胞具备了精子的雏形,成为未熟精子。随着精子成熟,核成为薄的核杯,在近核杯口处可见核膜内凹包裹线粒体,但线粒体嵴已消失,成为线粒体衍生物。顶体囊内分化出丝状层 (FL) 和中间层 (ML),同时片层结构和头帽越来越明显,但辐射臂尚未出现 (图版 II:12)。此阶段常可见致密的颗粒物质贴附于头帽外,可能是头帽分化过程中残留的

排出物。

精细胞分化到中期时,完全被营养细胞所包裹;到后期,营养细胞已失去活细胞的结构,呈细密织网状,未熟精子与营养细胞完全失去结构上的联系,而居于营养细胞构成的网孔中直至完全成熟后排放到生精小管腔中(图版 II:13)。

三、讨 论

中华绒螯蟹精子发生过程与前人对其他十足类动物精子发生的描述基本相同,但前人的工作多数在光镜水平下进行^[4,6,7,9,12,14,15],我们用电镜对中华绒螯蟹精子发生作了详细观察,从而更有利于对细胞结构的变化作出较为正确的分析。

1. 细胞核 早期精细胞以前,细胞核基本都呈圆形或卵圆形;精细胞分化时,核逐渐变扁,最后呈杯状。核仁在精细胞以前明显存在,自精细胞分化开始就消失不见。精子形成过程中,由于多余细胞质的卸弃,核膜与质膜相互贴合,但两者并未融合。我们的结果与 Reger 的一致^[12],而 Anderson, Ellis 和 Langreth 认为两者融合形成“外被”(tegument)^[4,7]。Reger 曾指出,后期精细胞中核膜的近顶体部分开孔似网格,导致核物质、中心粒、线粒体以及膜残余物的混合。我们认为:中心粒没有和核物质混合,后期精细胞和成熟精子的这部分核膜也无开孔似网格的迹象^[3]。辐射臂是核的外突,在未熟精子中尚未形成,直到成熟阶段才出现。

2. 线粒体 线粒体的形态在精子发生过程中变化不大,呈卵圆形或棒状,但在成熟精子中,嵴消失而成为线粒体衍生物,并被近核杯口的核膜所包裹(图版 II:12)。在精原细胞中,线粒体集中形成“线粒体区”,随后就均匀分布;精子形成时,部分线粒体参与形成环状膜片层体,部分混合在膜复合体中,其余则被卸弃。这些观察结果与 Anderson, Ellis 和 Langreth 的分析较为一致^[4,7]。关于十足类动物成熟精子中是否存在线粒体以及线粒体在这类精子中的功能等的意见虽存分歧^[10,11],有待继续探讨,但至少十足类动物无鞭毛精子的线粒体确实远少于常规鞭毛精子。我们所观察到的线粒体已缺失嵴的结构,这可能与这类精子不运动,因而对线粒体提供能量的需求不大有关。

3. 高尔基体 我们同多数学者对一些十足类动物精子的观察结果相一致,即自始至终在精子发生过程中未见典型的高尔基体。目前仅有 McCroan 曾在绿螯虾(*Cambarus viridis*)的精原细胞和精母细胞中发现高尔基体。至于高尔基体的存在是否与种间差异有关或我们观察到的内质网小泡是否亦属一类非典型高尔基体,目前尚难定论。

4. 内质网 精子发生过程中,内质网始终以小泡的形式存在。精原细胞中多数是滑面型的,精母细胞开始,出现粗面内质网小泡,并逐渐增大;精细胞阶段,粗面内质网小泡合成并分泌原顶体颗粒。此结果同 Pochon-Masson 的结论一致:高尔基体组分缺失,粗面内质网代之以形成顶体是十足类甲壳动物精子的一个主要特征^[11]。精细胞后期,部分内质网小泡参与形成膜片层体和膜复合体,最终膜复合体参与了顶体管的形成。这与 Kaye 等人对日本拟螯虾(*Cambaroides japonicus*)精子发生中内质网分化的研究相吻合^[6]。Reger 曾提出膜复合体的一部分突入中央管中央,形成粗丝状穿透器^[12],这在本研究中未得到证实。

5. 拟染色体及中心粒 拟染色体在精原细胞中已出现;在初级精母细胞中包围中

心粒,形成中心粒附属物,随后消失不见。至于中心粒,除在初级精母细胞中外,我们也在后期精细胞和成熟精子中发现,但在其他细胞中均未见到,这可能是由于切片时没有切到的缘故。中心粒在精子形成时,可能先混合在膜复合体中,当膜复合体产生顶体管物质时,把中心粒带入中央管,成熟精子的中心粒位于中央管近基部处^[3]。McCroan 和 Langreth 认为:中心粒的存在与精细胞后期核内微管的产生有关^[7,8],但这有待于进一步证实。

6. 顶体 十足类动物精子的顶体大而复杂,其起源意见不一,有的认为和常规鞭毛精子一样,由高尔基体产生^[5,8];有的认为起源于线粒体^[10];近年来通过电镜研究,多数学者较一致地认为顶体可能起源于内质网小泡^[4,7,9,11,15]。我们认为,精细胞中粗面内质网小泡逐渐分泌产生小而致密的原顶体颗粒,随后这些颗粒相互合并,形成一个原顶体囊,在精子分化和成熟过程中,原顶体囊再分化出头帽、片层结构、中间层和丝状层;同时,原顶体囊近核一端的中央内凹,由膜复合体产生电子密度低的物质,一部分进入凹陷形成中央管,另一部分在顶体囊外周形成顶体管的外周延伸部分,从而形成结构完整的顶体。部分原顶体囊的残余物质被排放到头帽外。

参 考 文 献

- [1] 堵南山、赖伟、薛鲁征, 1986. 中华绒螯蟹染色体的研究。动物学研究 7(3):293—296。
- [2] 堵南山、赖伟、薛鲁征, 1987. 中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 精子顶体反应的研究。动物学报 33(1):8—13。
- [3] 堵南山、赖伟、薛鲁征, 1987. 中华绒螯蟹精子的研究 I. 精子的形态及超微结构。海洋与湖沼 18(2):119—125。
- [4] Anderson, W. A. & R. A. Ellis, 1967. Cytodifferentiation of the crayfish spermatozoon: acrosome formation, transformation of mitochondria and development of microtubules. *Z. Zellforsch* 77: 80—94.
- [5] Dan, J. C., 1970. Morphogenetic aspects of acrosome formation and reaction. In: *Advances in Morphogenesis*, ed. by M. Abercrombie, J. Brachet, T. J. King. Academic Press, New York and London, 8: 1—39.
- [6] Kaye, G. I., G. D. Pappas, G. Yasuzumi et al., 1961. The distribution and form of the endoplasmic reticulum during spermatogenesis in the crayfish, *Cambaroides japonicus*. *Z. Zellforsch* 53: 159—171.
- [7] Langreth, S. G., 1969. Spermiogenesis in *Cancer* crabs. *J. Cell Biol.* 43: 575—603.
- [8] McCroan, J. E., 1940. Spermatogenesis of the crayfish, *Cambarus viridis*, with special reference to the Golgi material and mitochondria. *Cytologia* 11: 136—155.
- [9] Moses, M. J., 1961. Spermiogenesis in the crayfish (*Procambarus clarkii*) II. Description of stages. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 10: 301—334.
- [10] Nath, V., 1956. Cytology of spermatogenesis. In: *Int. Rev. Cytol.*, ed. by G. H. Bourne, J. F. Danielli. Academic Press Inc. New York, 5: 395—453.
- [11] Pochon-Masson, J., 1983. Arthropoda-Crustacea. In: *Reproductive Biology of Invertebrates*, Vol. II: Spermatogenesis and Sperm Function, ed. by K. G. Adiyodi & R. G. Adiyodi. John Wiley & Sons Ltd., pp. 407—449.
- [12] Reger, J. F., 1970. Studies on the fine structure of spermatids and spermatozoa of the crab, *Pinnixia* sp. *J. Morph.* 132: 89—100.
- [13] Ruthmann, A., 1958. Basophilic lamellar systems in the crayfish spermatocyte. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 4: 267—273.
- [14] Yasuzumi, G., 1960. Spermatogenesis in animals as revealed by electron microscopy VII. Spermatid differentiation in the crab, *Eriocheir japonicus*. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 7: 73—87.
- [15] Yasuzumi, G., G. I. Kaye, G. D. Pappas et al., 1961. Nuclear and cytoplasmic differentiation in developing sperm of the crayfish, *Cambaroides japonicus*. *Z. Zellforsch* 53: 141—158.

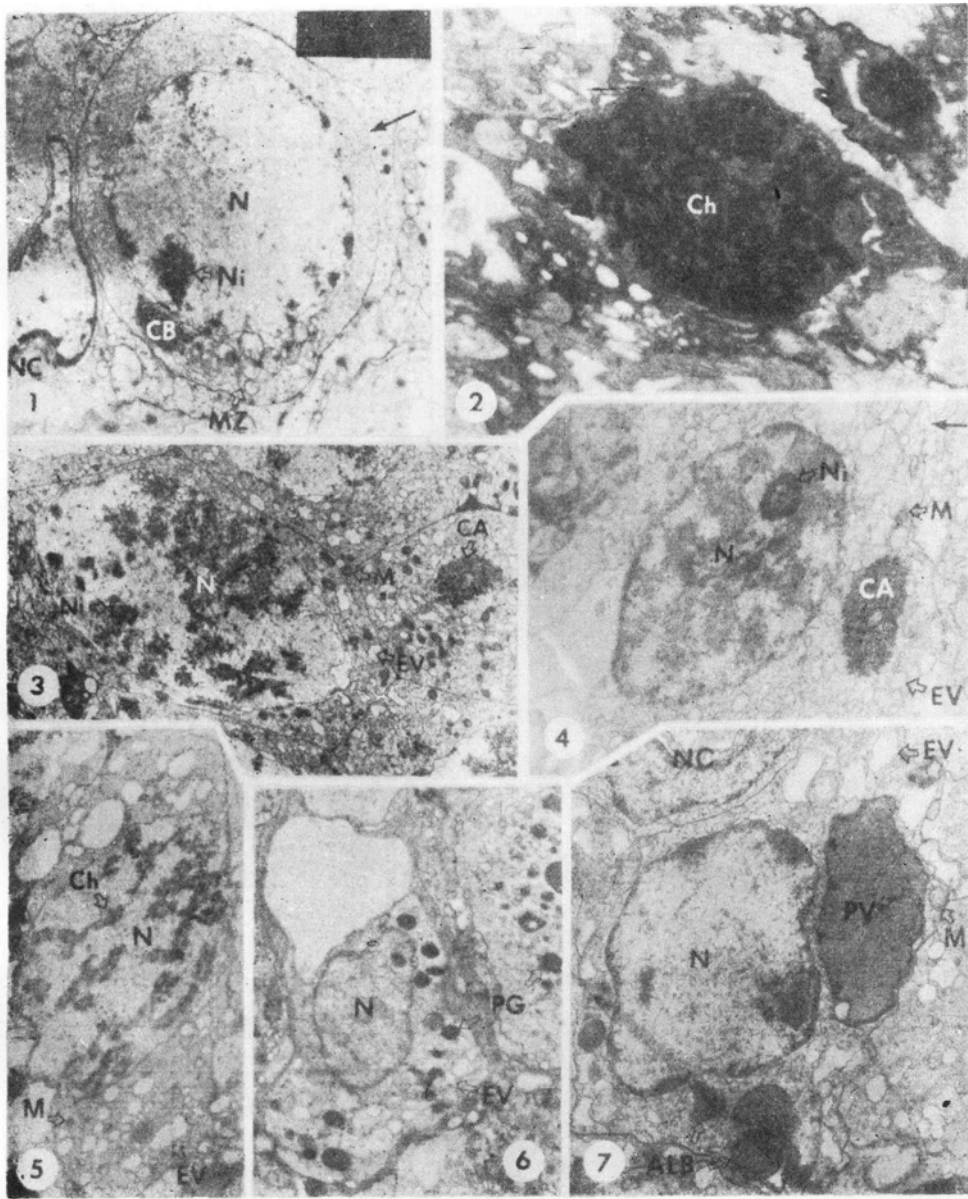
**STUDIES ON THE SPERM OF CHINESE MITTEN-HANDED
CRAB, *ERIOCHEIR SINENSIS* (CRUSTACEA,
DECAPODA) II. SPERMATOGENESIS**

Du Nanshan, Xue Luzheng and Lai Wei

(East China Normal University, Shanghai)

ABSTRACT

The spermatogenesis in the Chinese mitten-handed crab (*Eriocheir sinensis*) was studied with electron microscope. The results show that the spermatogonium has an oval shape, in which mitochondria and endoplasmic reticulum vesicles concentrate at one end of the cytoplasm to form a mitochondria zone. The spermatocyte is of polygonal shape, which contains a centriole appendage formed by the chromatoid body's surrounding the centriole. In the early spermatid, many small dense particulates, proacrosomal granules which are produced by rough endoplasmic reticulum vesicles, aggregate to form a large proacrosomal vesicle. Gradually, at the late stages, the nuclear transforms into a cup-like shape and surrounds the proacrosomal vesicle; between the two parts, a layer of membrane complex appears. With the maturing of the sperm, the proacrosomal vesicle differentiates into acrosome which is composed of apical cap, acrosomal tubule, fibrous layer, middle layer and some lamellar structures. In the mature sperm, acrosome is surrounded tightly by nuclear cup which radiate a number of radial arms.

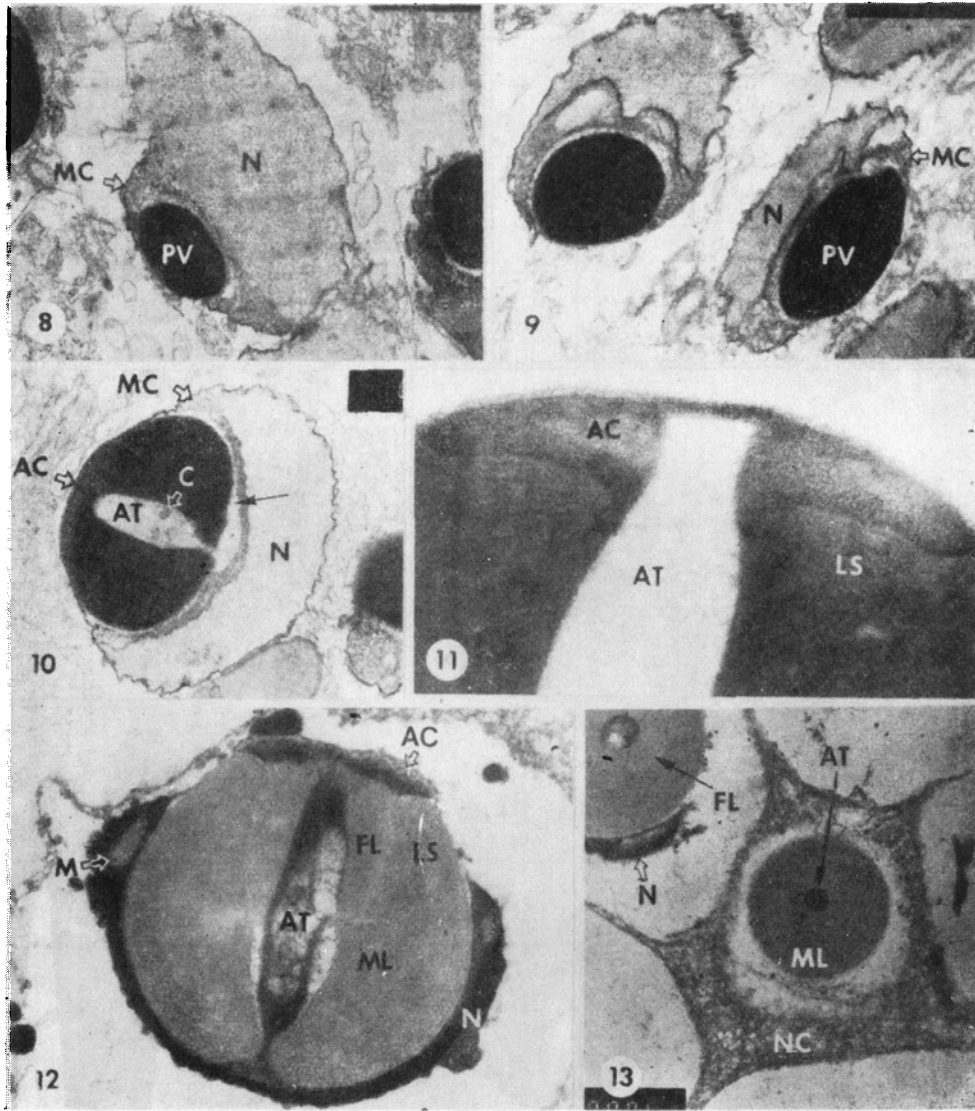


图版 I 中华绒螯蟹 (*E. sinensis*) 的精原细胞、精母细胞及精细胞

Plate I Spermatogonium, spermatocyte and spermatid of Chinese mitten-handed crab (*Eriocheir sinensis*)

1. 精原细胞, 细箭头示细胞间桥 ($\times 4\ 000$); 2. 精原细胞有丝分裂中期 ($\times 10\ 000$); 3. 初级精母细胞 ($\times 5\ 000$); 4. 初级精母细胞局部放大, 细箭头示细胞间桥 ($\times 8\ 000$); 5. 次级精母细胞减数分裂前期 II ($\times 5\ 000$); 6. 早期精细胞 ($\times 4\ 000$); 7. 中期精细胞 ($\times 8\ 000$).

CB. 拟染色体; MZ. 线粒体区; N. 核; NC. 营养细胞; Ni. 核仁; Ch. 染色体; CA. 中心粒附属物; EV. 内质网小泡; M. 线粒体; PG. 原顶体颗粒; ALB. 环状膜片层体; PV. 原顶体囊。



图版 II 中华绒螯蟹 (*E. sinensis*) 的精细胞及精子

Plate II Spermatid and sperm of the Chinese mitten-handed crab (*Eriocheir sinensis*)

8. 中期精细胞 (×8 000); 9. 中期精细胞 (×10 000); 10. 后期精细胞 (×10 000); 11. 后期精细胞前端局部纵切 (×48 900); 12. 未成熟精子纵切 (×18 700); 13. 精子在营养细胞网孔中成熟 (×10 000).

MC. 膜复合体; N. 核; PV. 原顶体囊; AC. 头帽; AT. 顶体管; C. 中心粒; LS. 片层结构; FL. 丝状层; M. 线粒体; ML. 中间层; NC. 营养细胞。