

文章编号: 1000-0615(2002)02-0097-07

西施舌精子发生过程的超微结构观察

饶小珍¹, 陈寅山¹, 陈文列², 林岗¹, 钟秀容²

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

摘要: 利用透射电镜研究西施舌精子的发生和结构, 揭示了从精原细胞逐渐发育为精子过程中细胞形态结构的变化和细胞器的演变规律。精细胞的分化分为 6 期, 主要包括: 核形态由扁圆到圆再到椭圆形; 核染色质以颗粒状形式凝集; 高尔基体分泌的前顶体颗粒聚合发育为前顶体囊, 参与顶体的形成; 线粒体逐渐融合与发达; 中心体的移动及鞭毛的形成; 胞质的逐步减少。成熟精子为原生型, 由头部、中段和尾部组成。顶体圆锥状, 高密度的顶体物质集中分布于基部四周, 呈灯罩状; 亚顶体腔呈尖锥状, 内含密度较低的均匀物。细胞核近椭圆形。中段由 4 个椭圆形的线粒体和 2 个相互垂直的中心粒组成。尾部鞭毛为典型的“9+2”型结构。

关键词: 西施舌; 精子发生; 精子; 超微结构

中图分类号: S917; Q132.1 文献标识码: A

Ultrastructural observation on spermatogenesis of *Coelomactra antiquata*

RAO Xiao-zhen¹, CHEN Yin-shan¹, CHEN Wen-lie², LIN Gang¹, ZHONG Xiu-rong²

(1. Bioengineering College, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China;

2. Electron Microscopy Lab, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, China)

Abstract: The ultrastructure of spermatogenesis and spermatozoon of *Coelomactra antiquata* was observed with transmission electron microscope. Detailed observations and descriptions of morphological and structural changes of cells as well as transformation of cell organelles were made submicroscopically from spermatogonia to spermatozoa. The spermatid differentiation can be divided into six stages. During spermatid differentiation, the main changes are as follow: elongation of nucleus, condensation of chromatin (in granular pattern), acrosome formation, development and fusion of mitochondria centriole shifting, and flagellar formation cytoplasmic sloughing. Mature sperms are of typical primitive type, consisting of three regions: head, middle piece and tail. The acrosome is conical. Acrosomal materials with a lampshade-shaped structure lie round its base. The subacrosome space is conical with materials of low density. The nucleus is ellipsoidal. Four large ellipsoidal mitochondria and two centrioles make up the middle piece. The flagellum is a standard “9+2” microtubular structure.

Key words: *Coelomactra antiquata*; spermatogenesis; spermatozoon; ultrastructure

动物精子的发生是生物学中重要的问题之一; 而动物精子的形态结构可作为分类的依据之一。同时, 海洋动物精子的细微结构变化和鞭毛运动性的变异可以作为监测海洋环境污染的指标^[1]。软体动

物双壳类精子超微结构及精子发生, 国外已有较多的研究^[1-6], 国内近年来也做了一些工作^[7-12]。西施舌 (*Coelomastra antiquata*) 俗称“海蚌”, 其足部肌肉发达, 滋味鲜美, 为海产中之珍品^[13]。有关西施舌生活史和性腺周期等已有报道^[14, 15], 但其精子发生过程和精子的超微结构研究, 迄今国内外未见报道。本文应用透射电镜研究其精子发生和成熟精子的超微结构, 为更好地进行人工育苗提供理论依据。

1 材料与方法

西施舌于2000年5月-6月其繁殖季节购自福州市和平市场。将活体西施舌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 h, 漂洗; 铀块染, 乙醇-丙酮梯度脱水, 环氧树脂618包埋。LKB- (J)型超薄切片机切片, 切片用醋酸铀柠檬酸铅双重染色; 日立Hu-12A透射电镜观察与摄影。

2 结果

西施舌的精巢属滤泡型, 精子的发生不同步, 可见从生殖上皮向管腔中央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(图版iv-1)。

2.1 精原细胞

这类细胞数目较少, 位于滤泡壁四周的基底膜上。早期的胞体呈长条状, 长径约为6.5 μm, 紧贴基底膜, 短径约为2.5 μm。细胞核大, 其形状与胞体一致, 大小约为4.5 μm × 1.8 μm, 核膜清晰, 核周腔明显。异染色质少, 凝集成小块状附在核内膜及不均匀分散在核质中。细胞质较少, 电子密度较低。线粒体较少, 散布于细胞的两端, 嵴稀短, 基质电子密度低。内质网较小, 呈囊泡或小管状, 但未见高尔基体等细胞器(图版iv-2)。早期精原细胞经一次有丝分裂, 细胞形状变为近似方形, 仍与基底膜结合, 内质网稍增大变长, 异染色质形态与早期精原细胞一样(图版iv-3)。

2.2 初级精母细胞

精原细胞转化生长成为初级精母细胞。胞体近方形, 大小为2.5~3.5 μm × 4~5 μm。核近椭圆形, 核内异染色质增多, 呈块状分布。胞质电子密度增高, 较多较小的线粒体分布在细胞核四周, 线粒体嵴稍增长增多(图版iv-4)。

2.3 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, 形成双核细胞(图版iv-5)。细胞呈椭圆形, 大小约为3 μm × 5 μm。核也呈椭圆形, 大小约为2.5 μm × 3 μm, 呈块状的异染色质比初级精母细胞稍大些, 且部分连在一起。胞质电子致密度较高。线粒体逐渐移至细胞的一端, 并相互融合, 数目开始减少(图版iv-6)。高尔基体发育较好, 呈数层扁平囊状或环状, 其附近或周围分泌有一些嗜锇的大小约0.08 μm × 0.1 μm的高尔基液泡。这些较高电子密度颗粒状液泡将成为前顶体颗粒并有相互融合的趋势(图版iv-7)。

2.4 精细胞

由次级精母细胞经第二次成熟分裂产生, 体积小, 根据发育过程中形态和结构的变化, 可分为6个时期。

精细胞iv期: 胞体呈长椭圆形, 大小约为3.2 μm × 2 μm。核形与胞体一致, 大小为2.8 μm × 1.8 μm, 异染色质浓缩呈较大的块状。线粒体逐渐融合, 数目减少, 体积增大。前顶体颗粒继续融合发育形成囊状的前顶体囊, 内含电子密度中等的均匀絮状物。前顶体囊与线粒体共同分布于细胞的一端(图版iv-8)。

精细胞v期: 胞体呈圆形或椭圆形, 大小约为2.8 μm × 2.5 μm。核呈扁圆形, 长约1.2 μm、宽约1.8 μm, 位于细胞的中央。核内细颗粒状的染色质浓缩呈粗块, 并大部分连成片, 电子致密度明显增大。

细胞质含量较多,电子密度较低。线粒体逐渐移至核的后端,相互融合,最终剩下4个大的线粒体形成中段。线粒体呈圆形或椭圆形,嵴较长且密集。同时中心体也往核后端移至线粒体之间。两个中心粒相互垂直排列,一个横切面为椭圆形,另一个为短棒状,并发出尾鞭(图版⑤-1)。前顶体囊不断增大,逐渐迁移至核的前端,呈椭圆形,宽约 $1\ \mu\text{m}$ 、长约 $0.7\ \mu\text{m}$ (图版⑤-2)。

精细胞④期: 细胞形状大小与③期相似。核变得较圆,长约 $1.2\ \mu\text{m}$ 、宽约 $1.4\ \mu\text{m}$ 。异染色质进一步浓缩,呈粗颗粒状。前顶体囊临核面中央先内凹,形成浅锥状的亚顶体腔,内含密度较低的均匀物质。然后,前顶体囊的内含物开始逐渐沉积于前顶体囊基部的四周,呈现为高密度的均质物,其它区域仍含有一些密度较低的未沉积内含物(图版⑤-3)。这样前顶体形成。

精细胞⑤期: 由于细胞质大量减少,细胞体积显著减小,长约 $2.5\ \mu\text{m}$ 、宽约 $1.5\ \mu\text{m}$ 。核形态大小与④期相似,呈圆形,长约 $1.3\ \mu\text{m}$ 、宽约 $1.5\ \mu\text{m}$ 。但粗颗粒状异染色质完全连为一体,且较均匀,因此密度下降。含少量细胞质。前顶体和亚顶体腔不断向前伸展,由囊状变为圆锥状,前顶体的内含物几乎完全沉积于前顶体基部的四周(图版⑤-4)。

精细胞⑥期: 与⑤期相比,主要变化是细胞延长,形态与精子相似,长约 $3.1\ \mu\text{m}$ 、宽约 $1.3\ \mu\text{m}$ 。核延长呈椭圆形,长约 $1.6\ \mu\text{m}$ 、宽约 $1.3\ \mu\text{m}$ 。粗颗粒状的染色质均匀分布于核中,电子密度有所提高,核前沟明显。仍有少量的细胞质。线粒体增大,前顶体继续发育(图版⑤-5)。

精细胞⑦期: 形态大小与精子基本一致,长约 $3.0\ \mu\text{m}$ 、宽约 $1.1\ \mu\text{m}$ 。核进一步缩小,长约 $1.4\ \mu\text{m}$ 、宽约 $1.1\ \mu\text{m}$ 。核内粗颗粒状染色质不断浓缩,电子致密度显著增高,逐渐向高电子密度均质化转变,但有一些核泡。前顶体和亚顶体腔进一步向前延伸,形成顶体(图版⑤-6)。精细胞丢弃多余的细胞质而演变为成熟的精子。

2.5 成熟精子

西施舌精子为鞭毛型精子,全长约 $45\ \mu\text{m}$,由头部、中段和尾部三部分构成(图版⑤-7)。头部长约 $2.2\ \mu\text{m}$,包括顶体与细胞核两部分。顶体位于头部最前端,结构独特,呈圆锥状,长约 $1\ \mu\text{m}$,最宽处约 $0.6\ \mu\text{m}$ (图版⑤-8)。顶体内含物的分布不均匀,集中位于顶体基部周围,呈灯罩状,长度约为 $0.3\ \mu\text{m}$ 。顶体物质由均匀的高密度物质组成,其致密度与细胞核的一样。顶体的其它空间无顶体物质,但往往含有一些小囊泡。顶体外包一层连续的单层膜,按所在位置的不同,可分为顶体外膜与顶体内膜。顶体外膜以薄层胞质与质膜相间隔,胞质内也含有小囊泡,顶体内膜毗邻亚顶体腔。亚顶体腔呈尖锥状,位于顶体基部正中,长约 $0.6\ \mu\text{m}$,内含均匀的电子密度较低的亚顶体物质。从过顶体基部的横切面清晰可见(图版⑤-9),顶体最外包被一层质膜,高密度的顶体物质呈一环,其外被顶体外膜;中央为密度较低的亚顶体物质,其外被顶体内膜;两者间为顶体的空腔。细胞核近椭圆形,长 $1.2\ \mu\text{m}\sim 1.3\ \mu\text{m}$,宽约 $1\ \mu\text{m}$ 。颗粒状染色质高度凝聚使核成一致密物,可见一些电子透明的核泡。在亚顶体腔处核稍许凹陷,形成一浅的V字形核前窝。中段较短,长约 $0.8\ \mu\text{m}$,最大宽度为 $1.1\ \mu\text{m}$,包括线粒体环和中心粒复合体。中心粒复合体含有互相垂直的近、远端两个中心粒,横切面显示为“9+0”结构。线粒体环由4个椭圆形的线粒体围绕在中心粒周围构成(图版⑤-10)。线粒体径长约为 $0.8\ \mu\text{m}\times 0.6\ \mu\text{m}$,嵴发达,清晰可见,但整个线粒体的电子密度较低。尾部细长,长约 $42\ \mu\text{m}$,由轴丝和质膜组成。轴丝由远端中心粒发出,为典型的“9+2”型结构,由中央的两个单根微管和周围的9个成对微管组成。

3 讨论

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和修饰型精子两大类。双壳类软体动物的精子大部分属原生型精子^[2]。西施舌的精子具典型的原生型结构,由头部、中段和尾部三部分组成。双壳类精子形态的差异主要表现在头部的外形构造上,例如青蛤的精子头部呈稍弯的圆柱状^[9];栉孔扇贝和波纹巴非蛤呈锥形^[11,16];合浦珠母贝精子顶体呈奶嘴状,核近圆桶状^[7];中国淡水蚌精子顶体呈L形,核近圆形^[12]。西施舌精子顶体呈圆锥状,核近椭圆形,中段较短,

与头部紧密结合。这与齐秋贞等在光镜下描述顶体为圆球状有所不同^[14]。西施舌精子结构的独特之处在于顶体物质呈不均匀分布,集中位于顶体基部四周呈灯罩状,其横切面与纵切面显示颇有特色。由于顶体含有很大的空腔,在滤泡腔中往往受到其它细胞的挤压,形态有所改变。至于部分顶体空腔中的小囊泡有何功能,是正常结构还是受污染引起的异常现象,还需作进一步的探讨。

西施舌精子顶体形成过程与贻贝、青蛤和波纹巴非蛤等相似^[6,9,16],由高尔基体分泌的前顶体颗粒融合,体积增大形成前顶体囊,由前顶体囊逐渐发育形成顶体。但形成过程与结构特点有些差异,西施舌前顶体囊内的物质为均匀、密度中等的絮状物,前顶体囊临核面先内凹形成亚顶体腔,然后絮状物逐渐沉积在前顶体囊基部四周,电子密度加大,形成前顶体。双壳类软体动物的顶体属简单顶体,一般顶体内含物的电子密度均匀,没有分化的结构如栉孔扇贝^[11],或是前后端内外区电子密度有所不同如合浦珠母贝、大珠母贝和青蛤^[7-9]。但西施舌精子的高密度顶体物质呈不均匀分布,集中位于基部四周,象西施舌顶体物质的不均匀分布在其它双壳类中还未见报道,这种分布有何生物学意义还需作进一步的研究。此外,在顶体与核之间有一尖锥形的腔隙,为亚顶体腔,内含均匀的低电子密度的亚顶体物质。Longo 和 Domfeld 通过对贻贝的研究认为,亚顶体物质是高尔基体分泌的产物^[6]。本文没有观察到由高尔基体分泌的亚顶体物质,亚顶体物质的来源尚需进一步研究。某些双壳类亚顶体腔内有称为轴体或轴棒的复杂结构^[2,6],但西施舌的亚顶体腔内没有发现轴体结构,内含的亚顶体物质可能会起到与轴体相同的作用。

关于精细胞分化过程的分期问题,不同的学者根据所观察的结果有各自的分期法。李太武等把贻贝精细胞分化分为5个时期,主要根据顶体的发育^[10]。曾志南和李复雪把青蛤的精细胞分为早、中、晚三期,主要依据顶体的演化,细胞核及染色质的变化和线粒体的演化特点^[9]。本文依照曾志南等的分期根据,在详细观察顶体形成的基础上,把精细胞的分化划分为6期。在西施舌精细胞分化过程中,线粒体的演变规律与其它双壳类一致,但线粒体的数目及位置在精细胞的早期(⊖期)就基本确定,而中后期主要是核形的变化和染色质的浓缩。核染色质浓缩比较缓慢,染色质的形态演变经历:稀疏小团块→细颗粒状团块→粗颗粒状团块→粗颗粒状均匀分布→高密度均质物。随着染色质浓缩过程的进行,核的形态由扁圆而圆再延长为椭圆形,同时体积逐渐缩小,这一过程与青蛤和波纹巴非蛤等的类似^[9,16]。但染色质的密度却经历由低到高再到低又到高的变化,而不象其它的双壳类如波纹巴非蛤在染色质浓缩过程中,存在着一个密度不断递增的趋势^[16]。

参考文献:

- [1] Daniels E W. Ultrastructure of spermatozoa from the American oyster *Crassostrea virginica* [J]. Trans Am Microsc Soc, 1971, 90: 275- 282.
- [2] Franzen A. Ultrastructural studies of spermatozoa in three bivalve species with notes on evolution of elongated sperm nucleus in primitive spermatozoa [J]. Gamete Res, 1983, 7: 199- 214.
- [3] Hodgson A N, Bernard R T. Ultrastructure of the sperm and spermatogenesis of three species of Mytilidae (Mollusca, Bivalvia) [J]. Gamete Res, 1986, 15: 123- 135.
- [4] Hodgson A N, Bernard R T. A comparison of the structure of the spermatozoa and spermatogenesis of 16 species of Patellid iimpet (Mollusca, Bivalvia) [J]. J Morph, 1988, 195: 205- 223.
- [5] Dorange G, Lepennee M. Ultrastructural characteristics of spermatogenesis in *Pecten maximus* (Mollusca, Bivalvia) [J]. Invert Reprod Develop, 1989, 15: 109- 117.
- [6] Longo F J, Domfeld E J. The fine structure of spermatid differentiation in the mussel, *Mytilus edulis* [J]. J Ultrastr Res, 1967, 20: 462- 480.
- [7] Shen Y P, Zhang X Y. Observation on the ultrastructure of spermatogenesis and spermatozoon of pear oyster, *Pinctada martensii* Dunker [J]. J Wuhan Univ (Natural Science), 1993, 39(6): 123- 129. [沈亦平, 张锡元. 合浦珠母贝精子发生过程的超微结构观察 [J]. 武汉大学学报, 1993, 39(6): 123- 129.]
- [8] Du X D. Studies on the ultrastructural changes in spermatogenesis of *Pinctada maxima* Jameson [J]. J Wuhan Univ (Natural Science), 1996, 42(2): 219- 224. [杜晓东. 大珠母贝精子发生超微结构变化的研究 [J]. 武汉大学学报, 1996, 42(2): 219- 224.]
- [9] Zeng Z N, Li F X. Studies on ultrastructure of spermatid differentiation in *Cydnina sinensis* [J]. Acta Oceanol Sin, 1991, 13(4): 547- 551. [曾志南, 李复雪. 青蛤精细胞分化的超微结构研究 [J]. 海洋学报, 1991, 13(4): 547- 551.]
- [10] Li T W, Su X R, Li C M, et al. Histology and ultrastructure of male reproductive system of *Mytilus edulis* Linnaeus [J]. Zoological Research,

- 1999, 20(3): 168- 171. [李太武, 苏秀榕, 李春茂, 等. 贻贝雄性生殖系统的组织学和超微结构[J]. 动物学研究, 1999, 20(3): 168- 171.]
- [11] Ren S L, Wang R C, Wang D X. Ultrastructure of spermatozoon of the *Chlamys farreri*[J]. J Ocean Univ Qindao, 1998, 28(3): 387- 391. [任素莲, 王如才, 王德秀. 栉孔扇贝精子超微结构的研究[J]. 青岛海洋大学学报, 1998, 28(3): 387- 391.]
- [12] Rao X Z, Chen Y S, Chen W L, et al. Ultrastructural studies on spermatogenesis of *Novaculina chinensis*[J]. Chin J Zool, 2000, 35(5): 2- 5. [饶小珍, 陈寅山, 陈文列, 等. 中国淡水蛭精子发生的超微结构研究[J]. 动物学杂志, 2000: 35(5): 2- 5.]
- [13] Qi Z Y. The valuable Mollusca in China[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1998. 229. [齐钟彦. 中国经济软体动物[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998. 229.]
- [14] Qi Q Z, Gao R C, Qiu W R, et al. The life history of *Coelomacra antiquata*[J]. J Fujian Normal Univ(Natural Science), 1995, 11(4): 82- 88. [齐秋贞, 高如承, 邱文仁, 等. 西施舌的生活史[J]. 福建师范大学学报(自然版), 1995, 11(4): 82- 88.]
- [15] Huang Y M, Lin S Y, Chen Y S, et al. A study of the seasonal changes of *Coelomacra antiquata*[J]. J Fujian Normal Univ(Natural Science), 1983, (2): 135- 144. [黄一鸣, 林翀瑛, 陈寅山, 等. 西施舌生殖腺季节性变化的研究[J]. 福建师范大学学报(自然版), 1983, (2): 135- 144.]
- [16] Zhao Z J, Li F X. Ultrastructural studies of spermatogenesis in *Paphia undulata*[J]. J Oceanography Taiwan Strait, 1992, 11(3): 238- 243. [赵志江, 李复雪. 波纹巴非蛤精子发生的超微结构[J]. 台湾海峡, 1992, 11(3): 238- 243.]

图版说明 Explanation of Plate

图版 iv

1. 滤泡腔中的各级生殖细胞 $\times 6\ 810$; 2. 精原细胞 $\times 12\ 600$; 3. 晚期精原细胞 $\times 11\ 700$; 4. 初级精母细胞 $\times 7\ 740$; 5. 双核期次级精母细胞 $\times 12\ 100$; 6. 次级精母细胞 $\times 15\ 200$; 7. 精母细胞期的高尔基体 $\times 43\ 200$; 8. 精细胞 iv 期 $\times 13\ 400$

图版 ㉓

1. 移至核后端的中心粒 $\times 18\ 400$; 2. 精细胞 ㉓期 $\times 18\ 500$; 3. 精细胞 ㉔期 $\times 29\ 300$; 4. 精细胞 ㉕期 $\times 29\ 300$; 5. 精细胞 ㉖期 $\times 18\ 200$; 6. 精细胞 v 期 $\times 30\ 000$; 7. 成熟精子 $\times 29\ 000$; 8. 顶体纵切 $\times 31\ 500$; 9. 顶体基部横切 $\times 21\ 800$; 10. 精子中段横切 $\times 41\ 000$

CM: 细胞膜; NP: 核前窝; N: 细胞核; \uparrow : 核泡; Go: 高尔基体; F: 鞭毛; Mi: 线粒体; BM: 基底膜; A: 顶体; PV: 前顶体囊; PA: 前顶体; DC: 远端中心粒; PC: 近端中心粒; RER: 粗面内质网; Sg: 精原细胞; Sp: 精细胞; Ss: 次级精母细胞; *: 亚顶体腔; \uparrow : 顶体物质; \downarrow : 顶体内膜; \uparrow : 顶体外膜

Plate iv

1. various spermatogenic cells in a follicle $\times 6\ 810$; 2. spermatogonium $\times 12\ 600$; 3. spermatogonium at post stage $\times 11\ 700$; 4. primary spermatocyte $\times 7\ 740$; 5. secondary spermatocyte of binucleate phase $\times 12\ 100$; 6. secondary spermatocyte $\times 15\ 200$; 7. Golgi bodies of spermatocyte phase $\times 43\ 200$; 8. spermatid iv $\times 13\ 400$

Plate ㉓

1. centriole transferring to the rear of nucleus $\times 18\ 400$; 2. spermatid ㉓ $\times 18\ 500$; 3. spermatid ㉔ $\times 29\ 300$; 4. spermatid ㉕ $\times 29\ 300$; 5. spermatid ㉖ $\times 18\ 200$; 6. spermatid v $\times 30\ 000$; 7. mature sperm $\times 29\ 000$; 8. the longitudinal section of acrosome $\times 31\ 500$; 9. the cross section of acrosome in base $\times 21\ 800$; 10. the cross section of middle piece $\times 41\ 000$

CM: cell membrane; NP: nuclear pocket; N: nucleus; \uparrow : nuclear vesicle; Go: Golgi bodies; F: flagellum; Mi: mitochondria; BM: basal membrane; A: acrosome; PV: proacrosomal vesicle; PA: proacrosome; DC: distal centriole; PC: proximal centriole; RER: rough endoplasmic reticula; Sg: spermatogonium; Sp: spermatid; Ss: secondary spermatocyte; *: subacrosomal space; \uparrow : acrosomal material; \downarrow : intenal membrane; \uparrow : extermal membrane



