

文章编号: 1674 - 5566(2012)02 - 0199 - 05

魁蚶精子发生的超微结构

叶 婧¹, 姜建湖²

(1. 浙江工商大学 食品与生物工程学院, 浙江 杭州 310012; 2. 宁波大学 教育部应用海洋生物技术重点实验室, 浙江 宁波 315211)

摘要: 利用透射电镜(TEM)技术观察了魁蚶精子发生过程的超微结构变化。结果表明: 魁蚶精子发生经历了精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精子细胞和精子形成等过程, 在精子形成中的主要细胞学事件包括顶体的发育、核形态变化及尾部的形成等。此过程中, 前顶体颗粒聚集、融合, 形成顶体囊, 然后发育为圆锥形顶体; 核的形态由圆形或卵圆形变为鼓形, 核内染色质由团块状到颗粒状, 再到高电子密度均质; 线粒体聚集、融合、体积变大, 迁移至核的后端, 参与精子中段的形成。成熟精子由头部、中段及尾部组成, 头部由顶体及核构成, 中段由5个线粒体围绕远端中心粒组成, 尾部为细长的鞭毛。

精子发生是繁育生物学重要研究内容之一。国内外对双壳类软体动物精子发生及精子形态结构的研究较多^[1-8]。蚶科是双壳贝类中的一大类群, 部分种类的精子超微结构或精子发生已见研究报道^[9-12]。魁蚶(*Scapharca broughtoni*)是蚶科代表动物, 我国、日本及菲律宾沿海浅海区均有分布。作为重要的海产经济贝类之一, 魁蚶的苗种生产及增殖已经开展^[13]。有关魁蚶的繁育生物学, 郭学武^[14]研究了魁蚶的性腺发育与生殖周期, 但其精子发生过程的超微结构未见研究报道。

本研究利用透射电镜技术观察了魁蚶精子发生过程中初级精母细胞、次级精母细胞、精子细胞和精子形成等的变化过程, 旨在积累魁蚶繁育生物学资料, 亦可为蚶科精子发生机制的深入研究提供参考。

研究亮点: 魁蚶为我国重要的海产经济贝类之一, 目前对其精子发生过程的超微结构未见研究报道。利用透射电镜技术观察了魁蚶精子发生过程中精子顶体的形成、核的形态建成等主要细胞学事件, 探明了魁蚶精子属原生型, 顶体物质的合成始于初级精母细胞时期, 细胞核在精子发生过程中形态变化不大等问题, 为蚶科精子发生机制的深入研究提供了参考。

关键词: 魁蚶; 精子发生; 精子; 超微结构

中图分类号: S 917; Q - 336

文献标志码: A

1 材料与方法

实验材料于4-7月间逐月从宁波海鲜品市场购得。挑选活力好的个体进行活体解剖, 快速取得精巢, 切成约1 mm³大小的小块, 用0.1 mol/L的磷酸缓冲液(pH为7.4)配制的3%戊二醛(4℃)固定过夜, 然后, 用1%锇酸(4℃)固定2 h。乙醇梯度浓度脱水, Epon812环氧树脂渗透、包埋, 用LKB-II型超薄切片机制片, 经醋酸铀及柠檬酸铅双重染色后于JEM-1200EX型透射电镜下观察拍照。并用Image-Pro Plus 6.0图像分析软件对精子顶体和细胞核大小进行测量。

2 结果

魁蚶精子发生经历了精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精子细胞和成熟精子的发育

收稿日期: 2011-07-09 修回日期: 2011-11-18

基金项目: 浙江省分析测试科技计划项目(2008F70038)

作者简介: 叶 婧(1985—), 女, 研究实习员, 研究方向为生物技术。E-mail: yellowleaf@mail.zjgsu.edu.cn

过程。

2.1 精原细胞与精母细胞

精原细胞位于生精小管基膜处,细胞质很少,核占据细胞体积的大部分,胞体及胞核都呈卵圆形;核内染色质呈小团块状或颗粒状且分散分布;胞质中线粒体较少(图版-1)。精原细胞经有丝分裂增殖,发育成初级精母细胞。

初级精母细胞的胞体呈卵圆形或不规则形,体积比精原细胞期增大,核质比比精原细胞期减小。细胞核呈卵圆形,核内染色质多数团块状,少数颗粒状(图版-2,3);胞质中的线粒体数目比精原细胞时期增多,从线粒体的切面观看呈圆形或卵圆形,在细胞一端可观察到线粒体集中的现象(图版-2);胞质中索条状内质网较发达,电子致密颗粒(electrodense vesicle)较多(图版-3,4),这些致密颗粒可能是前顶体颗粒。初级精母细胞经第一次成熟分裂产生染色体减半的次级精母细胞。

次级精母细胞的胞体体积比初级精母细胞小,细胞核为圆形或卵圆形,核内染色质呈团块状;胞质中可观察到结构典型的高尔基体及其分泌的囊泡;胞质中电子致密颗粒仍存在,有的颗粒已较大;索条状内质网仍清晰可见(图版-5,6)。初级精母细胞分裂过程中,因细胞核分裂在先、细胞质分裂在后,因此,可观察到细胞核已分裂为二、细胞质尚未分开的双核期细胞,此时期,线粒体集中分布现象明显(图版-7)。

2.2 精子细胞

次级精母细胞经第二次成熟分裂形成精子细胞,体积比精母细胞小。精子细胞经分化形成成熟精子,主要变化过程如下:

精子细胞早期,胞体椭圆形或不规则形,胞核呈圆形或卵圆形;核内染色质由团块状向颗粒状转化,胞质中线粒体嵴发达、基质电子密度高(图版-8)。胞质中仍可见较多的电子致密颗粒,有些颗粒聚集在一起(图版-8,9)。

精子细胞中期,胞体形状不规则,核内染色质已转变成颗粒状,多分布于核膜内侧一周,核中央分布少;胞质中的线粒体数目减少,体积明显增大,嵴发达,内部基质丰富(图版-10,11);在核外一侧,紧贴核膜的细胞质中可见一个较大的、呈圆球状的电子致密颗粒,其外具有单层膜

包裹,或称为顶体囊。在顶体囊外仍可见分散的较小的电子致密颗粒(图版-12,13)。

精子细胞后期,核染色质从颗粒状不均匀分布逐渐向均质均匀分布转化,顶体囊从球状变成扁囊状,进一步隆起发育成圆锥形顶体;线粒体向顶体囊相对一端,即核的后端迁移,参与精子中段的形成;核后端凹窝、即核后窝形成,中心粒位于核后窝处,中心粒发出的尾部轴丝形成(图版-14~18)。

精子细胞分化过程中,细胞质越来越少,细胞核染色质凝集程度越来越高,核体积逐渐缩小,最后形成高电子密度的均质体。细胞膜包被在顶体膜及核膜外,形成体积小、结构上精巧的成熟精子。

2.3 精子

成熟精子由头部、中段及尾部组成,头部由顶体与细胞核构成,中段由线粒体环绕远端中心粒构成,尾部为鞭毛结构(图版-19)。

顶体呈倒V字的圆锥形,覆盖于细胞核的前端,长约 $0.75\ \mu\text{m}$,宽约 $1.1\ \mu\text{m}$;整个顶体由一层顶体膜包裹,顶体内含物十分丰富,电子密度高而均匀;顶体与细胞核之间围成的区域称为顶体下腔(subacrosome vesicle),近核端较宽,向前端渐窄,于顶端处略膨大成球状,下腔中物质呈颗粒状集中分布于腔中央区,呈锥形(图版-19,20,23)。

细胞核呈鼓形,长约 $1.54\ \mu\text{m}$,宽约 $1.73\ \mu\text{m}$,核内物质高度浓缩且均匀分布;核的后端中央有一倒V字形的核后窝(posterior nuclear pocket),近端中心粒位于核后窝处(图版-19,20)。

中段由5个球状或椭球状线粒体围绕远端中心粒构成,外围有质膜包被;近端中心粒的长轴与精子纵轴垂直,远端中心粒紧接于近端中心粒的后方,其长轴与精子纵轴平行。远端中心粒后端向外围发出9条辐射状电子致密带,每条致密带的末端与质膜及线粒体相连,加强了尾部鞭毛与中段之间的连接(图版-19,24,25)。

尾部为细长的鞭毛,由轴丝及其包绕在轴丝外的质膜组成。轴丝起始于远端中心粒的末端,横切面观呈典型的“9+2”结构(图版-19,21,22)。

3 讨论

3.1 顶体物质的来源及顶体的发育

在软体动物中,一般认为顶体物质的形成与高尔基体密切相关,高尔基体分泌的囊泡积累致密物,形成前顶体颗粒,然后融合发育成顶体囊^[6-8],进一步发育成顶体。我们的观察发现,魁蚶精子发生过程的初级精母细胞时期,胞质中出现大小不一的电子致密颗粒,而且许多是膜围颗粒,可能是高尔基体形成的前顶体颗粒,尤其是次级精母细胞时期的胞质中结构典型的高尔基体清楚可见,分泌活动旺盛,参与前顶体颗粒的合成;到精子细胞时期,前顶体颗粒聚集,可能通过融合形成大的球状囊,并迁移至核的一端、紧贴核膜形成顶体囊,然后逐渐隆起发育成圆锥形顶体。以往有研究者认为,前顶体颗粒物质在精母细胞阶段出现是一种早熟现象,可能与精子细胞后期发育阶段未能形成必须的、迅速合成顶体物质的机制有关^[1];青蛤精子形成过程中,精母细胞时期前顶体颗粒物质开始形成,此时期胞质中有高尔基体、线粒体及内质网等细胞器,特别是高尔基体发育良好,高尔基体及内质网与顶体物质的合成相关,随着中期及后期精子细胞中内质网的消失,高尔基体失去了物质来源,不再合成、分泌前顶体颗粒^[8]。本研究的魁蚶精子顶体物质的合成始于初级精母细胞时期也许属正常的生理现象。至于顶体颗粒物质聚集与迁移的动力,可能来自微管依赖蛋白——马达蛋白的作用^[15],有待于以后研究证实。

在蚶科动物,成熟精子顶体都呈圆锥形,长宽比例上似乎存在差异。泥蚶(*Tegillaca granosa*)精子顶体长 $0.67\ \mu\text{m}$,宽 $0.87\ \mu\text{m}$ ^[10];毛蚶(*Scapharca subcrenata*)精子顶体长 $0.76\ \mu\text{m}$,宽 $0.96\ \mu\text{m}$ ^[12];青蚶(*Barbatia virescens*)精子顶体具横纹结构,长 $0.47\ \mu\text{m}$,宽 $1.24\ \mu\text{m}$ ^[12];橄榄蚶(*Estellarca olivacea*)精子顶体长 $0.41\ \mu\text{m}$,宽 $0.82\ \mu\text{m}$ ^[9];本研究的魁蚶精子顶体长 $0.75\ \mu\text{m}$,宽 $1.1\ \mu\text{m}$,与毛蚶精子顶体相似。

3.2 核染色质的凝集及核形变化

动物精子细胞分化形成精子的过程中,核染色质浓缩的形态有3种基本类型:颗粒状、纤维状和片层状^[16],以何种类型为主?随动物类群及受精方式的不同而异。双壳类软体动物精子属

原生型、体外受精类型,精子细胞分化中核染色质凝集一般经过颗粒化^[6-8],而营体内受精的腹足类及头足类软体动物精子属进化型,精子细胞分化中核染色质凝集一般经过纤维化或片层化^[17-19]。本研究的魁蚶精子属典型的原生型,精子细胞分化过程中核染色质凝集由团块状转向颗粒状,再变成致密体,与青蛤(*Cyclina sinensis*)、菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)及缢蛏(*Solen strictus*)等双壳类相似,而与营体内受精的腹足类及头足类软体动物染色质凝集经过纤维化或片层化不同。精子细胞分化过程中,随着核染色质浓缩,核的形态也伴随着变化,魁蚶精子细胞早期细胞核呈圆形或卵圆形,到精子细胞后期成鼓形,并出现核后窝,核的形态变化不大,这与合浦珠母贝(*Pinctada fucata*)及大珠母贝(*Pinctada maxima*)等双壳类相似,而与青蛤及菲律宾蛤仔等的精子细胞分化过程核形变化较大即核明显延长不同。

在蚶科动物,成熟精子核的形态基本相同,但在长宽比例上似乎略有差异。泥蚶精子核长 $1.43\ \mu\text{m}$,宽 $1.47\ \mu\text{m}$ ^[10];毛蚶精子核长 $1.48\ \mu\text{m}$,宽 $1.48\ \mu\text{m}$ ^[12];青蚶精子核长 $1.52\ \mu\text{m}$,宽 $1.60\ \mu\text{m}$ ^[12];橄榄蚶精子核长 $1.66\ \mu\text{m}$,宽 $1.71\ \mu\text{m}$ ^[9];本研究的魁蚶精子核长 $1.54\ \mu\text{m}$,宽 $1.73\ \mu\text{m}$,与青蚶及橄榄蚶相近。

3.3 线粒体的演变及尾部中段的形成

魁蚶精子发生过程中,线粒体的分布、数目及结构随发育阶段而变化。精原细胞时期,胞质中线粒体较少;精母细胞时期,线粒体增多、有集中分布趋向;精子细胞时期,线粒体数目减少、体积增大、迁移到核的后端,参与精子尾部中段的形成。线粒体的演变与迁移满足了各发育阶段生精细胞代谢活动的能量需要,并为成熟精子的受精作用蓄积能源。

在蚶科动物,成熟精子中段线粒体的数目基本相同,泥蚶精子中段线粒体5个^[10],毛蚶及橄榄蚶精子中段线粒体常见5个、偶见4个^[9,12],青蚶精子中段线粒体常见5个、偶见6个^[12],本研究的魁蚶精子中段线粒体为5个,与泥蚶相同。

参考文献:

- [1] LONGO F J, DORNFEL E J. The fine structure of spermatid differentiation in the mussle, *Mytilus edulis* [J]. Journal of Ultrastructure Research, 1967, 20(5): 462-480.

- [2] 代培芳,饶小珍,陈寅山. 菲律宾蛤仔的精子发生和精子超微结构[J]. 动物学杂志,2004,39(2):26-32.
- [3] 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:自然科学版,1996,42(2):219-224.
- [4] 刘正琮,上官步敏,许振祖. 缢蛏精子发生超微结构的研究[J]. 厦门大学学报:自然科学版,1990,29(1):81-84.
- [5] 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):387-392.
- [6] 饶小珍,陈寅山,陈文列,等. 西施舌精子发生过程的超微结构观察[J]. 水产学报,2002,26(2):97-103.
- [7] 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:自然科学版,1993,39(6):123-129.
- [8] 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.
- [9] ZHU J Q, YANG W X. Ultrastructure of the mature spermatozoon of the bivalve *Stellarca olivacea* (Mollusca: Bivalvia: Arcidae) and its Phylogenetic Implications[J]. Acta Biologica Hungarica,2009,60(1):27-34.
- [10] 竺俊全,杨万喜,石钢德. 泥蚶精子的超微结构[J]. 浙江大学学报:理学版,2002,29(3):324-328.
- [11] 竺俊全. 毛蚶精子发生过程中线粒体行为研究[J]. 浙江海洋学院学报:自然科学版,2001,20(1):26-29.
- [12] 竺俊全,杨万喜. 毛蚶与青蚶精子超微结构及其所反映的蚶科进化关系[J]. 动物学研究,2004,25(1):57-62.
- [13] 妖红伟,郭晋,景娜娜. 魁蚶增殖状况及遗传多样性研究进展[J]. 河北渔业,2010(5):45-47.
- [14] 郭学武. 魁蚶生殖生物学初步研究[J]. 海洋水产研究,1994(15):55-63.
- [15] YANG W X, SPERRY A O. C-terminal kinesin motor KIFC1 participates in acrosome biogenesis and vesicle transport [J]. Biology of Reproduction,2003,69(5):1719-1729.
- [16] WALK N H. Comparative Spermatology[M]. New York:Academic Press,1970:383-591.
- [17] 柯才焕,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):233-238.
- [18] 应雪萍,姜乃澄,杨万喜. 泥螺精子发生的超微结构研究[J]. 动物学研究,2002,23(5):400-404.
- [19] MAXWELL W L. Spermiogenesis of *Eusepia officinalis* (L.), *Loligo forbesi* (Steenstrup) and *Alloteuthis subulata* (L.) (Cephalopoda, Decapoda) [J]. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 1975,191:527-535.

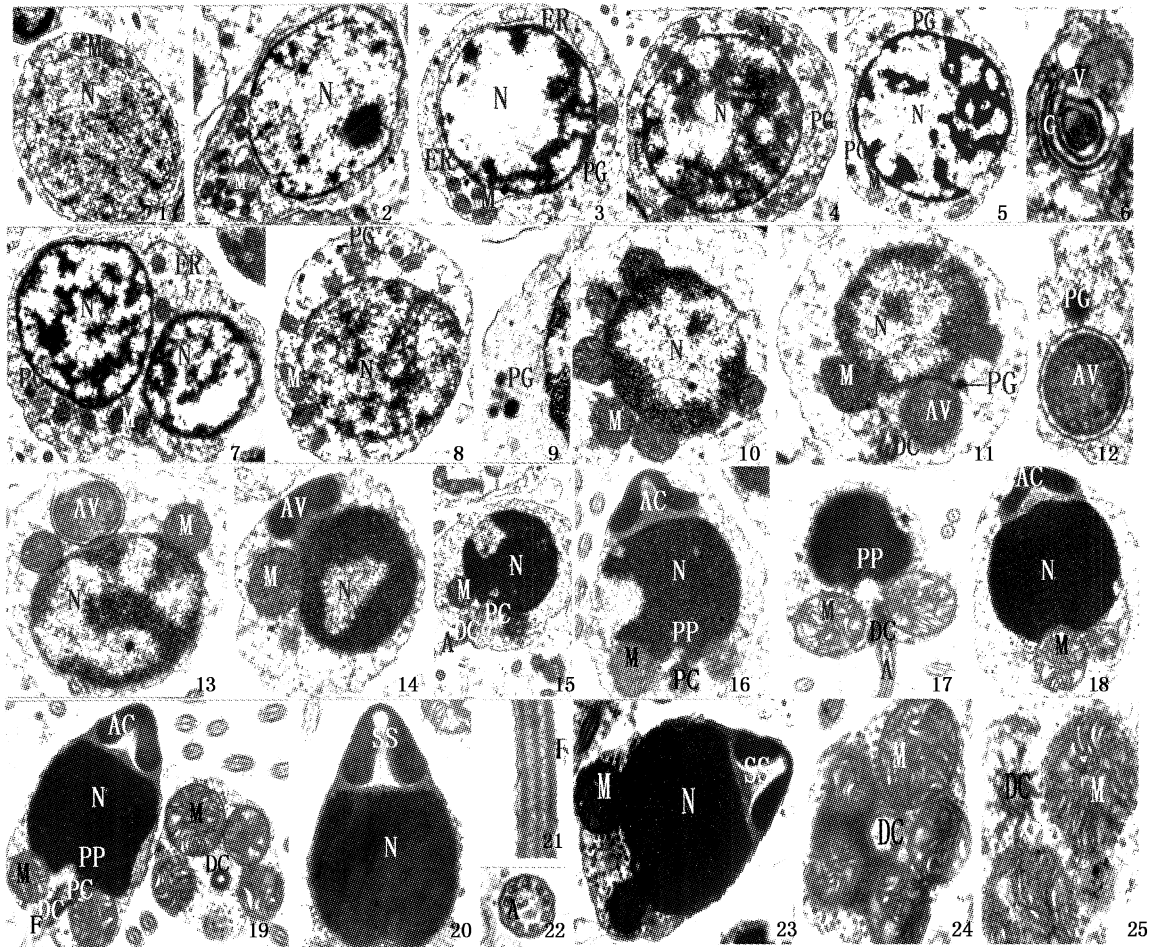
Ultrastructure of spermatogenesis of *Scapharca broughtoni*

YE Jing¹, JIANG Jian-hu²

(1. College of Food Science and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310012, Zhejiang, China; 2. Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology by the Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo 315211, Zhejiang, China)

Abstract: Ultrastructural changes during spermatogenesis of *Scapharca broughtoni* were investigated by transmission electron microscopy. Results showed that spermatogenesis in this species underwent successive stages of spermatogonium, primary spermatocyte, secondary spermatocyte, spermatid and spermatozoa. The changes during spermiogenesis mainly include acrosome development, morphological transformation of nucleus and formation of tail. In these processes, proacrosomal granules accumulated and fused into acrosomal vesicle and finally became a cone-shaped acrosome. The nucleus changed from round or oval to tympaniform. The chromatin in nucleus changed gradually from agglomerate to granule and eventually became homogenous with high electron density. Mitochondria accumulated and fused with larger size. At the same time, they gradually moved to the nucleus posterior and participated in formation of the mid-piece. Mature spermatozoon contained three parts: head, mid-piece and tail. The head consisted of an acrosome and a nucleus. The mid-piece comprised five mitochondria surrounding the distal centriole. The tail was a slender flagellum.

Key words: *Scapharca broughtoni*; spermatogenesis; sperm; ultrastructure



图版 魁蚶精子发生的超微结构

Plate Ultrastructure of Spermatogenesis of *Scapharca broughtoni*

1. 精原细胞,示核,线粒体,×8 000; 2. 初级精母细胞,示线粒体集中于细胞一端,×8 000; 3. 初级精母细胞,示核、线粒体、内质网及前顶体颗粒,×8 000; 4. 初级精母细胞,示核、线粒体及前顶体颗粒,×12 000; 5. 次级精母细胞,示核、线粒体及前顶体颗粒,×12 000; 6. 次级精母细胞,示高尔基体及囊泡,×50 000; 7. 双核期次级精母细胞,示核、线粒体、内质网及前顶体颗粒,×12 000; 8. 精子细胞早期,示线粒体及前顶体颗粒,×12 000; 9. 精子细胞早期,示前顶体颗粒聚集,×25 000; 10. 精子细胞中期,示核及线粒体,×20 000; 11. 精子细胞中期,示顶体囊形成,×20 000; 12. 精子细胞中期,示前顶体颗粒继续向顶体囊聚集,×25 000; 13. 精子细胞中期,示核、线粒体、顶体囊,×20 000; 14. 精子细胞后期,示核、线粒体、顶体囊,×12 000; 15. 精子细胞后期,示核、线粒体、近端与远端中心粒,×12 000; 16. 精子细胞后期,示顶体、核,×20 000; 17. 精子细胞后期,示核、中段线粒体、远端中心粒及轴丝,×20 000; 18. 精子细胞后期,示顶体、核,×20 000; 19. 精子纵切面,示顶体、核、核后窝、线粒体,以及近、远端中心粒,×20 000; 20. 精子头部纵切面,示顶体、顶体下腔及核,×25 000; 21. 精子尾部鞭毛纵切面,示中央微管,×40 000; 22. 精子尾部鞭毛横切面,示“9+2”微管结构,×60 000; 23. 精子头部纵切面,示顶体及顶体下腔,×20 000; 24. 精子中段横切面,示5个线粒体,×25 000; 25. 远端中心粒横切面,×40 000。

A. 轴丝; AC. 顶体; AV. 顶体囊; DC. 远端中心粒; F. 鞭毛; G. 高尔基体; N. 核; M. 线粒体; PC. 近端中心粒; PG. 前顶体颗粒; PP. 核后窝; ER. 内质网; SS. 顶体下腔; V. 囊泡。