

三角帆蚌精子的发生*

郭延平 谈奇坤

(安徽师范大学生命科学学院 芜湖 241000)

摘要:报道了光镜和透射电镜下三角帆蚌精子的发生过程及其一系列重要的形态变化,包括核延长、染色质浓缩、线粒体逐渐融合并后移;胞质减少及鞭毛形成。精原细胞是精巢中体积最大的细胞,细胞膜界限不明显,内质网发达。精母细胞开始出现中心粒。精细胞分化可分为3个阶段。成熟精子属原生型,由头部、中段和尾部三部分组成。

关键词:三角帆蚌;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:**0250-3263(2002)01-02-04

Ultrastructural Studies on Spermatogenesis of the Fresh Water Mussel, *Hyriopsis cumingii*

GUO Yan-Ping TAN Qi-Kun

(Biology College, Anhui Normal University Wuhu 241000, China)

Abstract:The ultrastructure and development of the male germ cells of *Hyriopsis cumingii* were studied with light microscopy and transmission electron microscopy. All changes including gradual nuclear elongation, chromatin condensation, mitochondria development and fusion, cytoplasmic sloughing and flagellar formation were asynchronous during spermatogenesis. Spermatogonia were the biggest cells in the testis, with well-developed endoplasmic reticulum. The centriole was firstly found in the spermatocyte. The changes of spermatids could be divided into 3 stages. A mature sperm is primitive type containing 3 parts, a head, a middle-piece and a long tail.

Key words: *Hyriopsis cumingii*; Spermatogenesis; Ultrastructure

双壳类软体动物精子及精子发生,在国外已有大量报道^[1-3,7-12],国内亦有少量工作^[4-6]。但对于淡水三角帆蚌精子发生过程迄今国内外未见报道。三角帆蚌(*Hyriopsis cumingii*)为我国特有的淡水育珠蚌,研究其精子发生等繁殖生物学问题,对深入开展人工繁殖,促进资源增殖有重要意义。

1 材料与方法

于1999年5月至2000年4月在芜湖农贸市场购得成熟雄性三角帆蚌,实验室暂养。剖

取生殖腺切成小块。透射电镜材料以2.5%戊二醛和1%锇酸双固定,Epon812包埋,LKB型超薄切片机切片,醋酸铀和柠檬酸铅双染色,日立H-600透射电镜观察并摄影。光镜材料以Bouin's液固定,石蜡包埋,切片厚6~8 μm, H. E染色,Olympus显微镜观察并摄影。

* 安徽省教委自然科学基金资助(No.96JL0033);

第一作者介绍 郭延平,女,25岁,硕士研究生;研究方向:淡水无脊椎动物繁殖生物学;现通讯地址:北京大学生命科学学院2001博,100871。

收稿日期:2000-11-05,修回日期:2001-08-10

2 观察结果

三角帆蚌的精巢由许多滤泡型腺体所组成,滤泡的腔壁由基膜及着生其上的生殖上皮和支持细胞所组成,在精巢组织的横切面上,能看到滤泡中不同发育时期的生殖细胞:精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精细胞和精子,不同滤泡内精子发育不同步(图版 I:1)。

2.1 精原细胞 因其发育程度的不同可分为两种类型:A型精原细胞和B型精原细胞。A型精原细胞为原始精原细胞,分布于滤泡壁基底膜上,是最大的生殖细胞。细胞多卵圆形或梨形,细胞膜分界不明显。胞质中具有线粒体、囊泡、较发达的内质网和新月形的高尔基体。细胞核形状与细胞相近,稍圆,长径可达 $9 \sim 10 \mu\text{m}$,短径 $6 \sim 7 \mu\text{m}$ 。染色质疏松透亮,具明显核仁,直径约 $2 \mu\text{m}$ (图版 I:2,2a)。A型精原细胞分裂数次后,便开始出现“桑椹胚”(morulae)现象。B型精原细胞的电子密度稍高于A型精原细胞,胞体稍小,卵圆形或梨形,长径约 $8 \sim 9 \mu\text{m}$,短径约 $5 \sim 6 \mu\text{m}$ 。胞质中具线粒体、大量囊泡、发达的环形片层内质网。核形状不规则,具明显凹陷,长径和短径分别在 $7 \sim 8 \mu\text{m}$ 和 $4 \sim 5 \mu\text{m}$ 。染色质出现凝集块,但仍可分辨出核仁(图版 I:3,3a)。

2.2 初级精母细胞 形状及大小与B型精原细胞相似,但胞质体积开始减小,长径约 $8 \sim 9 \mu\text{m}$,短径约 $5 \sim 6 \mu\text{m}$,电子密度较高。胞质内线粒体仍为小型,开始出现中心粒。囊泡和内质网数量减少。细胞核近圆形,直径约 $4 \sim 6 \mu\text{m}$,染色质分布较均匀,无核仁(图版 I:4,4a)。

2.3 次级精母细胞 细胞电子密度进一步加深,细胞核质比明显增加。细胞体积减小,形状不一,有近圆形、椭圆形或不规则形。平均长径约 $8 \mu\text{m}$,短径约 $4.5 \mu\text{m}$ 。细胞质电子密度大,缺少细胞器,但仍可分辨出线粒体和中心粒。核内染色质凝集成块,同时出现较多囊泡状结构(图版 I:5,5a)。

2.4 精细胞 精细胞根据其发育的不同可分为3个阶段。

2.4.1 精细胞 I 期 精细胞 I 期是精巢中“桑椹胚”现象最普遍的时期,每个细胞长径约为 $5 \mu\text{m}$,短径约为 $4 \mu\text{m}$ 。胞质较精母细胞进一步减少,线粒体数目开始减少,体积增大,直径约为 $0.5 \mu\text{m}$,并逐渐向以后形成中段的位置聚集。细胞核染色质凝集成大的团块,电子密度很高(图版 II:6,7)。

2.4.2 精细胞 II 期 精细胞 II 期成椭圆形。线粒体大小约为 $0.7 \mu\text{m}$,已基本移位到中段,并与细胞核相连,细胞核出现向内的凹陷。核内染色质弥散成细小颗粒状(图版 II:8)。

2.4.3 精细胞 III 期 精细胞 III 期为长椭圆形,细胞核长径约为 $2.2 \mu\text{m}$,短径约为 $1.7 \mu\text{m}$ 。核内染色质重新浓缩成短杆状,分布均匀。细胞核因线粒体的紧密相连而向内明显凹陷(图版 II:9)。

2.5 成熟精子 成熟精子为原生型,长约 $40 \sim 43 \mu\text{m}$,分为头部、中段和尾部(图版 II:10)。头部延长成子弹头状,大小约为 $3.2 \mu\text{m} \times 1.7 \mu\text{m}$,染色质浓缩,电子致密。前端由 $3 \sim 4$ 个小的电子致密的囊泡进而融合成为一个浅弧状的囊泡,为顶体囊泡(图版 II:11)。中段长约 $0.85 \mu\text{m}$,由环绕着两个相互垂直的中心粒的5个球形线粒体构成(图版 II:12)。尾部鞭毛呈典型 $9 + 2$ 结构,由中央的2个微管和周围的9个成对微管组成(图版:13)。

三角帆蚌精巢中有相当一部分数量的成熟精子以精子团结构形式存在。每个结构中精子数目不等,在精子的外被存在大量的微管(图版 II:10)。

3 讨论

三角帆蚌的繁殖季节在夏季,精巢由许多生殖滤泡构成,滤泡内各期生殖细胞皆可见。精原细胞位于滤泡壁基底膜上,并向滤泡腔内逐步发育成不同阶段的生殖细胞。三角帆蚌的精子发生过程与其它双壳类精子发生过程一致,包括了核延长、染色质浓缩、线粒体融合并移动、鞭毛形成等形态结构变化。

三角帆蚌精子发生过程中出现的“桑椹胚”

状结构在其它瓣鳃纲动物 *Prisodon alatus*, *Anodonta cygnea*, *A. grandis* 等中亦出现,但名称不一,也称多核现象^[1-3]。Edilson^[1]对 *P. alatus* 进行观察后提出,“桑椹胚”,即多核结构被 Sertoli cell 细胞所包围,在精子形成过程中 Sertoli cell 裂解,释放精细胞“桑椹胚”,随后精细胞“桑椹胚”裂解,产生游离精细胞,经过形态结构的变化,成为成熟精子。“桑椹胚”现象是精子发生过程中正常的现象。Sertoli cell 包围形成早期精细胞“桑椹胚”并给予其营养支持,同时 Sertoli cell 中大量存在的微管则与“桑椹胚”的运动有关。而 Dorange^[2]等认为多核结构无法产生正常精子,并在精子成熟后期导致死亡,多核现象是正常精子发生过程的偏离。作者在对三角帆蚌电镜样品的观察中亦观察到 Sertoli cell 的包围和精细胞“桑椹胚”的破裂,释放的游离精细胞再逐步形成成熟精子。作者认为三角帆蚌精子发生过程中“桑椹胚”状结构的出现,也是因为雄性生殖细胞核分裂之后,胞质分裂不完全,子细胞之间仍有部分胞质相连。由于“桑椹胚”内相连的精细胞能同步发育、分化,因而在繁殖季节精巢中能同时有较多数量的精子成熟,保证受精成功。

三角帆蚌精子发生过程中细胞核的形态与核内物质发生了显著的变化。随着细胞发育,细胞核由大的近球形或不规则形逐渐变为椭圆形,进而变为子弹头形。核内物质也发生了相应的变化,在精细胞期染色质由团块状凝集至小颗粒状,进而至短杆状,最后呈致密的均匀分布,这种核物质的形态变化在 *A. grandis*, *A. cygnea*^[2,3]和褶纹冠蚌(*Cristaria plicata*)^[4]等其它淡水蚌类精子发生过程中亦存在。作者认为核内染色质的高度浓缩,核体积的缩小,核的形状变成子弹头形,都有利于精子的运动,以减少受精过程中能量的损失。

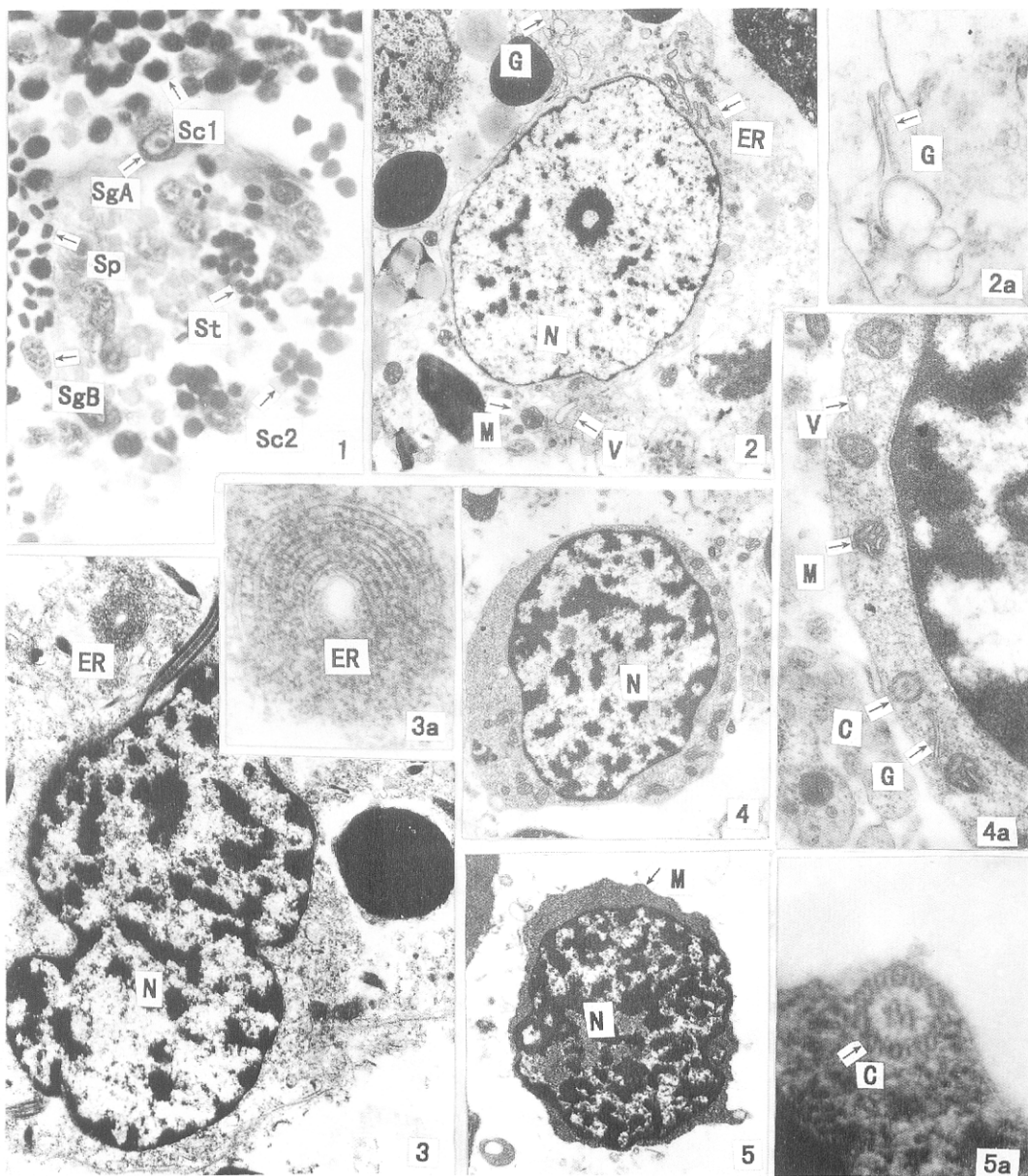
胞质在精子发生过程中发生了由多到少,由疏松到致密的变化。三角帆蚌在精原细胞期,细胞质存在大量内质网、囊泡、线粒体和少量高尔基体。到精母细胞期,细胞器数目减少,并开始出现中心粒。线粒体在精子发生过程中

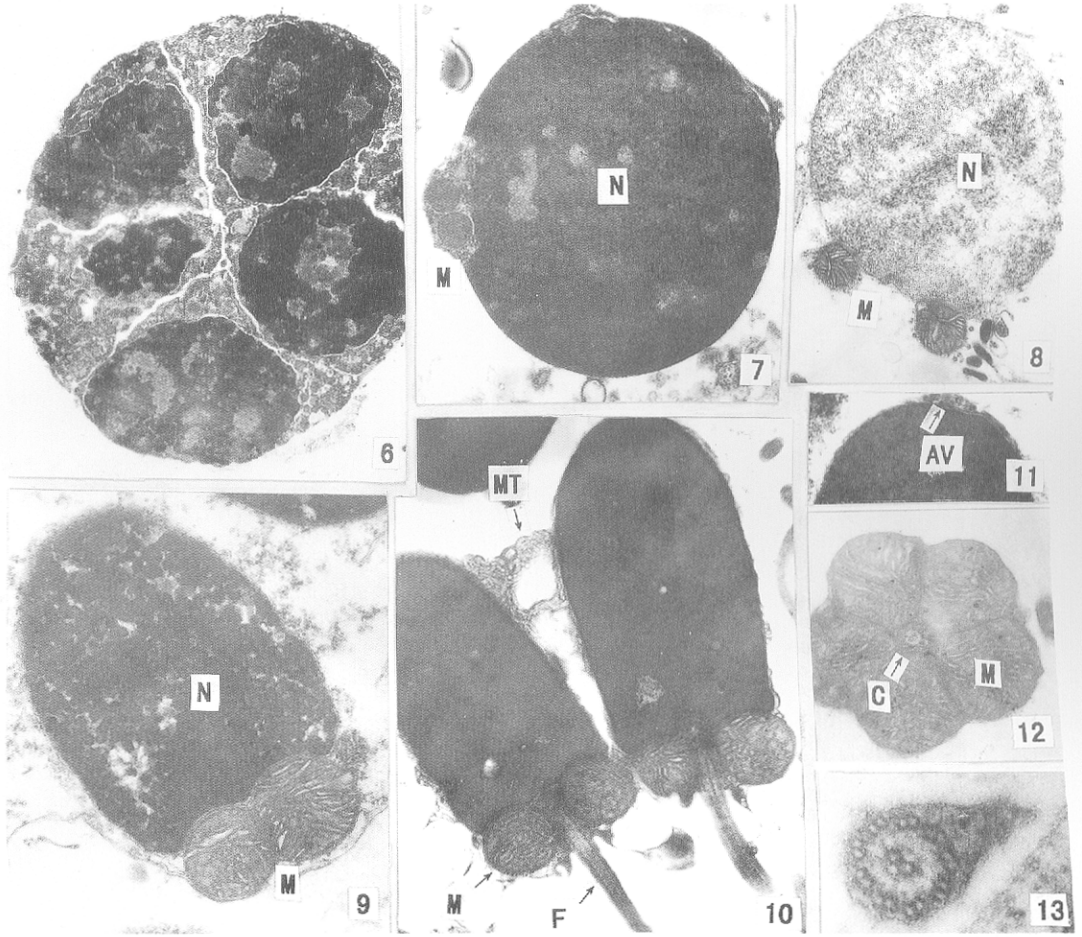
出现了融合现象,由开始数目较多的小型椭圆形线粒体逐步融合成5个大的球形线粒体,这与 *Diplodon chilensis*, *A. cygnea*, *A. grandis*, *H. schlegelii* 和褶纹冠蚌等淡水双壳类软体动物相一致^[2-5,7,8],线粒体融合现象普遍存在于双壳类其它软体动物的精子发生过程中。线粒体是精子能量的供应中心,5个大的球形线粒体集中于精子中段,有利于提供鞭毛运动的能量,促进精子运动。淡水蚌类中 *A. grandis*, *A. cygnea*^[2,3]等的精子具退化的小顶体,顶体仅由几个小的顶体囊泡融合而成,这一现象与作者观察的三角帆蚌相近似。作者认为三角帆蚌和其它许多淡水蚌类一样,精子顶体退化,是因为这些蚌类的受精作用和胚胎发育发生在雌蚌的外鳃腔中,不受自然水域剧烈变化的影响,因此卵膜较薄,无需经过复杂的顶体反应精子便能通过卵膜进入卵内。

参 考 文 献

- [1] Edilson M, Corral L, Azevedo C. Fine structure of spermiogenesis with special reference to the spermatid morulae of the freshwater mussel *Prisodon alatus* (Bivalvia, Unionioidea). *Journal of Morphology*, 1998, 238: 63 - 70.
- [2] Eduardo R, Azevedo C. Ultrastructure study of the spermatogenesis of *Anodonta cygnea* L. (Bivalvia, Unionidae). *Invertebrate Reproduction and Development*, 1990, 18: 3169 - 3176.
- [3] John W L. The ultrastructure of the sperm and motile spermatozoa released from the freshwater mussel *Anodonta grandis* (Mollusca, Bivalvia, Unionidae). *Canada Journal Zoology*, 1994, 72: 1452 - 1461.
- [4] 邓道贵,谈奇坤.褶纹冠蚌精子发生的研究.水生生物学报,2000,24(1):63 - 66.
- [5] 沈亦平,张锡元.合浦珠母贝精子发生过程的超微结构.武汉大学学报(自然科学版),1993(6):123 - 129.
- [6] 杜世章,石安静.椭圆背角无齿蚌的精子发生.四川大学学报(自然科学版),1994(31):194 - 199(专辑).
- [7] Sanejago P, Garrido O, Parada E. Spermiogenesis and sperm ultrastructure in the freshwater mussel *Diplodon chilensis chilensis* (Mollusca: Bivalvia). *Invertebrate Reproduction and Development*, 1990, 17(3):171 - 179.
- [8] Satoru H. Electron microscope studies on spermatogenesis of the fresh-water mussel, *Hyriopsis schlegelii*. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 1964, 7(30):564 - 569.

- [9] Hodgson A N, Bernard R T. Ultrastructure of the sperm and spermatogenesis of three species of *Mytilidae* (Mollusca, Bivalvia). *Gamete Research*, 1986, **15**: 123 ~ 135.
- [10] Mario S, Corral L, Azevedo C. Ultrastructural and cytochemical study of spermatogenesis in *Scrobicularia plana* (Mollusca, Bivalvia). *Gamete Research*, 1989, **24**: 393 ~ 401.
- [11] Kevin J E, Bieler R, Mikkelsen P M. Ultrastructure of sperm development and mature sperm morphology in three species of commensal bivalves (Mollusca: Galeommatoidea). *Journal of Morphology*, 1990, **205**: 63 ~ 75.
- [12] Ake F. Ultrastructural studies of spermatozoa in three bivalve species with notes on evolution of elongated sperm nucleus in primitive spermatozoa. *Gamete Research*, 1983, **7**: 199 ~ 214.
- [13] Reunov A A, Hodgson A N. Ultrastructure of the spermatozoa of five species of South African Bivalves (Mollusca), and an examination of early spermatogenesis. *Journal of Morphology*, 1994, **219**: 275 ~ 283.
- [14] Hodgson A N, Bernard R T F, Horst G V D. Comparative spermatology of three species of *Donax* (Bivalvia) from South Africa. *Journal of Mollusca Study*, 1990, **56**: 257 ~ 265.





1. 精巢滤泡部分切片放大, 示各期生殖细胞 $\times 1000$; 2. A 型精原细胞, 示细胞核、内质网、高尔基体、线粒体、囊泡 $\times 5000$; 2a. 部分放大, 示新月形高尔基体 $\times 20000$; 3. B 型精原细胞, 示不规则核 $\times 10000$; 3a. 部分放大, 示环形片层内质网 $\times 40000$; 4. 初级精母细胞 $\times 6000$; 4a. 部分放大, 示线粒体与中心粒 $\times 20000$; 5. 次级精母细胞 $\times 6000$; 5a. 部分放大, 示中心粒 $\times 25000$; 6. 精细胞“桑椹胚” $\times 6000$; 7. 精细胞 I 期 $\times 10000$; 8. 精细胞 II 期 $\times 10000$; 9. 精细胞 III 期 $\times 20000$; 10. 成熟精子, 示两个精子以微管相连 $\times 15000$; 11. 头部纵切, 示顶体囊泡 $\times 20000$; 12. 中部横切, 示线粒体环及中心粒 $\times 20000$; 13. 尾部横切, 示鞭毛的 $9+2$ 结构 $\times 60000$;

SgA: A 型精原细胞; SgB: B 型精原细胞; Sc1: 初级精母细胞; Sc2: 次级精母细胞; St: 精细胞; Sp: 成熟精子; AV: 顶体囊泡 (acrosome visicle); C: 中心粒 (centriole); ER: 内质网 (endoplasmic reticulum); F: 鞭毛 (flagellum); G: 高尔基体 (Golgi body); M: 线粒体 (mitochondrion); MT: 微管 (microtubule); N: 细胞核 (nucleus); V: 囊泡 (visicles)