

文章编号: 1000 - 5463(2004)02 - 0114 - 06

鳊精巢的组织学和超微结构观察

符路娣, 方展强*

(华南师范大学生命科学学院, 广东广州 510631)

摘要:对鳊精巢的组织学结构和超微结构进行观察。鳊精巢呈叶型结构,由精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精细胞、成熟精子等生殖细胞和支持细胞、间质细胞、边界细胞、类肌细胞、成纤维细胞、内皮细胞等非生殖细胞组成。鳊精子形成过程,精细胞大致经历了鞭毛发生,核质凝缩及核位置的改变,线粒体迁移等过程。鳊成熟精子无顶体结构,头短而圆,主要为核占据,核凹窝发达,尾细长,具侧鳍,尾部轴丝为“9+2”结构。

关键词:精巢;组织学结构;超微结构;鳊

中图分类号:Q959.499 **文献标识码:**A

HISTOLOGICAL AND ULTRASTRUCTURAL OBSERVATIONS ON THE TESTES IN SINIPERCA CHUATSI

FU Lu - di, FANG Zhan - qiang

(College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

Abstract: The histological structure and ultrastructure of the testes in *Siniperca chuatsi* were studied with light and transmission electron microscopy. The testes has a lobular type of organization and consists of spermatogonia, primary spermatocytes, second spermatocytes, spermatid, sperm and Sertoli cells, Leydig cells, boundary cells, Myoid cells, fibroblasts, endothelial cells, which composed of germ cells and interstitial cells. There are four developmental stages in spermiogenesis: the young spermatid; axoneme growth; condensation and rotation of nucleus; migration of mitochondria. Matured sperm is composed of the haed, midpiece and tail. The nuclear fossa is very developed. The tail is very long, containing lateral fins. The axonemes have a “9 + 2” pattern.

Key words: testes; histological structure; ultrastructure; *Siniperca chuatsi*

鳊(*Siniperca chuatsi*)俗称桂花鱼,分布东亚各大水系,自20世纪80年代人工繁殖成功已驯养为名贵淡水鱼类^[1]。关于鳊精巢组织学结构和超微结构的研究尚未见详细的报道。为了

收稿日期: 2003 - 04 - 21

基金项目: 广东省科委科技攻关资助项目(2KB05402N)

作者简介: 符路娣(1978),女,广东雷州人,硕士;方展强(1953-),男,广东普宁人,华南师范大学教授。

*通信联系人

进一步充实和提供鳊繁殖生物学资料,并为其人工养殖及人工繁殖提供科学依据,作者对鳊精巢的组织结构和超微结构进行观察,结果如下。

1 材料与方法

二龄性成熟的雄性鳊体长 270 ~ 370 mm,体质量 600 ~ 1000 g,分别于 2001 年生殖季节(5 ~ 6 月份)及非生殖季节(10 月份)取自广东省南海市水产养殖场。摘取的精巢样品置 Bouin 氏液固定 24 h,各级乙醇冲洗、脱水,经二甲苯透明,54 ~ 56 μ m 石蜡包埋,制成 5 ~ 8 μ m 切片,H-E 染色,中性胶封片后置显微镜下观察并拍照。部分样品经 0.2 mol/L 磷酸缓冲液(pH7.4)漂洗,投入 4%(w)戊二醛低温固定 15 h,后置 1%(w)锇酸固定 3 h,逐级乙醇脱水,环氧丙烷透明,Epon812 包埋,切成 40 ~ 60 nm 超薄切片,醋酸双氧铀及 Reynold 柠檬酸铅复染,最后置日立 H-300 型透射电镜观察及拍照。

2 结果

2.1 精巢组织学结构

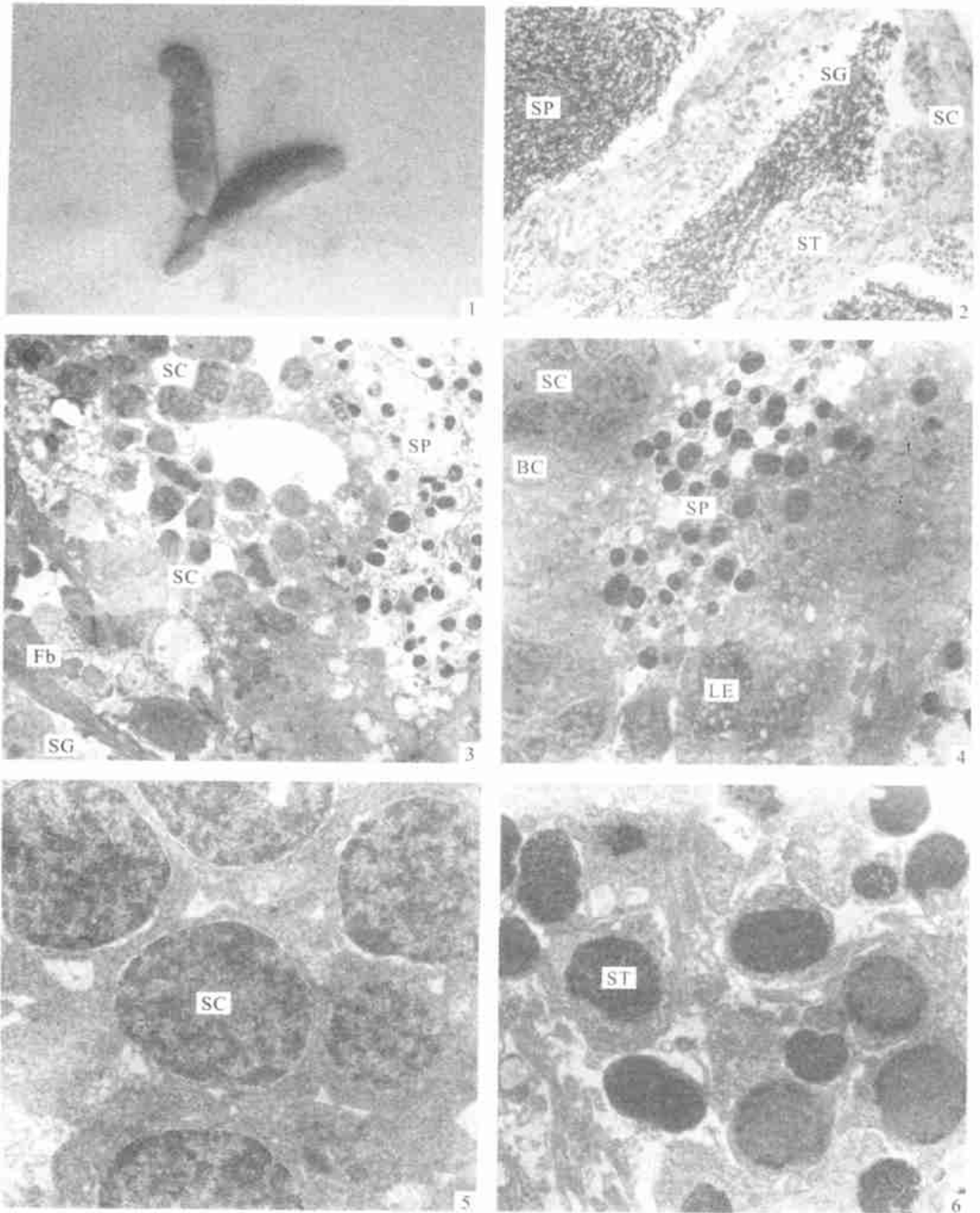
鳊精巢一对,位于肾脏腹面,呈长圆形,腹面有一条浅纵沟,左右精巢往后合为一体,成 Y 型(图版 :1)。光镜下,位于精小叶内缘的精原细胞呈圆形,体积较大,核大而清晰,生殖期鳊精巢中,精原细胞数量较少,常位于小叶内靠近基膜的部位(图版 :2)。精原细胞经有丝分裂后形成初级精母细胞,初级精母细胞呈圆球状,核圆且大,嗜碱性较强,核质不均。初级精母细胞经第一次成熟分裂(减数分裂)形成两个次级精母细胞,其后次级精母细胞又分裂成二个精细胞,精细胞圆形或短棒状,体积较小,嗜碱性更强。经变态后成熟的精子,体积小,光镜下呈颗粒样,常成群聚集于小叶腔中央(图版 :2)。

2.2 各级生精细胞的超微结构

精原细胞位精小叶内缘近基膜部位,呈卵圆形,胞径 8 ~ 9 μ m;核大而清晰(图版 :3)。精原细胞经有丝分裂形成初级精母细胞。初级精母细胞胞径 5 ~ 6 μ m,核径 3 ~ 4 μ m。根据其进行成熟分裂期间其核内染色质形态可将其划分为几个阶段:细线期,精母细胞形态仍类似精原细胞,但核内染色质较浓缩(图版 :3);偶线期/粗线期,胞核常呈现三深裂状联会丝复合体(图版 :3 ~ 4),此期为同源染色体的配对;双线期,核内的染色质已不凝缩而与粗线期阶段有明显的区别,染色体呈星状小团块分布,胞质少,细胞间由胞质间桥所连接而没有完全分开(图版 :5)。初级精母细胞经第一次成熟分裂形成两个次级精母细胞,其存在时间极短暂,不易观察到。随后又分别进行第二次成熟分裂形成两个精细胞。精细胞呈圆球形,直径 3 ~ 4 μ m,核圆球形,不具核仁结构,核径在 2 ~ 3 μ m 之间,核膜外层扩张成明显的核周腔,核内染色质开始高度浓缩(图版 :6)。精细胞经一系列分化变态,最终形成成熟精子。

2.3 精子形成的超微结构

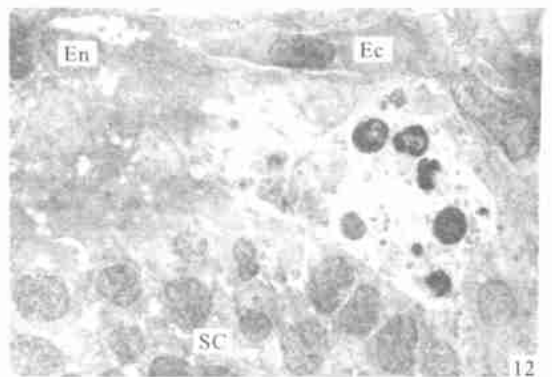
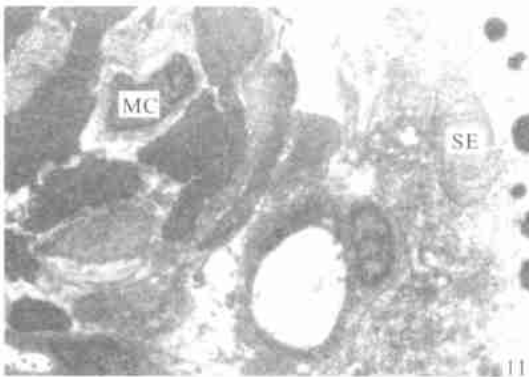
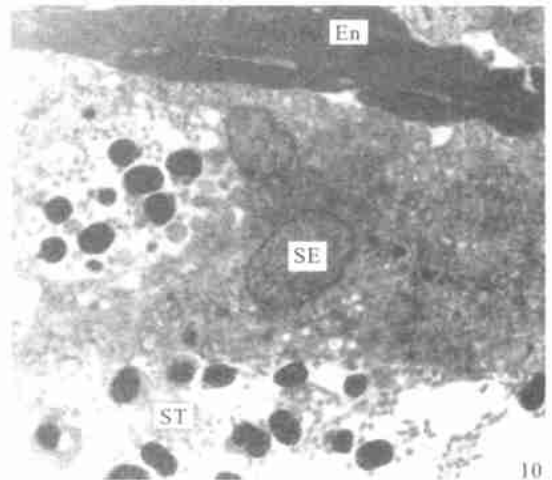
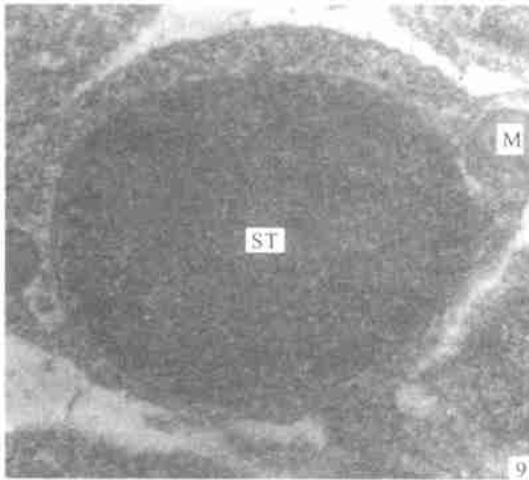
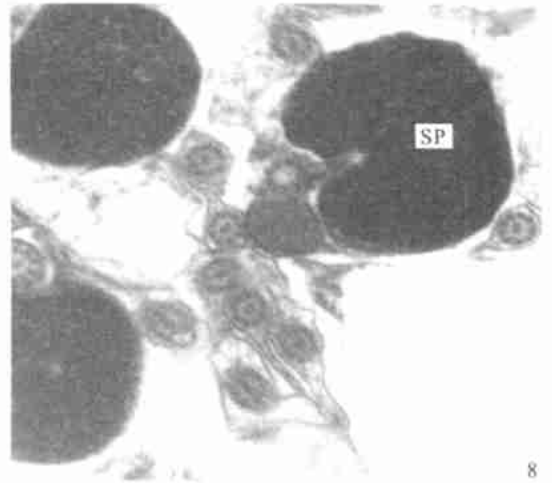
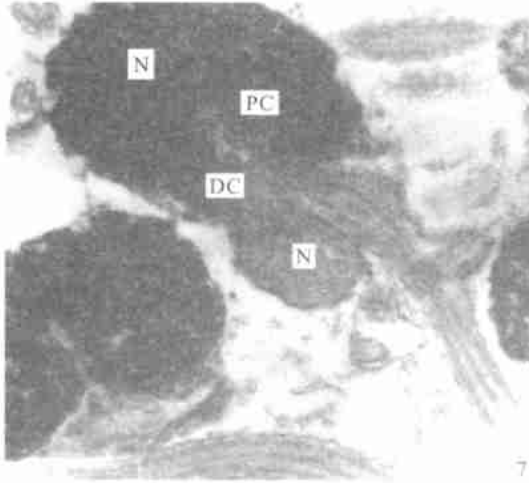
精子的形成过程,精细胞经历鞭毛发生、核质凝缩及核位置改变和线粒体迁移等过程。早期精细胞核质呈小颗粒状均匀分布,一对中心粒埋置在一些电子密度较高的围中心粒物质之中,并靠近核膜,在这一部位核膜被稍挤压成凹形状(图版 :6)。近端中心粒向细胞核内逐渐



1. 鳊精巢 $\times 1.2$; 2. 鳊精巢组织切片光镜图, H-E染色 $\times 100$; 3. 示精原细胞和精母细胞 $\times 1\ 867$;

4. 示初级精母细胞 $\times 2\ 000$; 5. 示初级精母细胞 $\times 8\ 600$; 6. 示早期精细胞 $\times 7\ 000$.

图版 (Plate D)



7. 示正在成熟的精子 $\times 20\ 000$; 8. 示精细胞发育后期 $\times 20\ 000$; 9. 示早期精细胞, 线粒体发生迁移 $\times 20\ 000$; 10. 示支持细胞 $\times 3\ 000$; 11. 示类肌细胞 $\times 3\ 000$; 12. 示内皮细胞 $\times 2\ 400$. BC: 边界细胞 (boundary cells); DC: 远端中心粒 (distal centriole); Ec: 红细胞 (erythrocyte); En: 内皮细胞 (endothelial cell); Fb: 成纤维细胞 (fibroblasts); LE: 间质细胞 (Leydig cells); M: 线粒体 (mitochondrion); MC: 类肌细胞 (Myoid cells); N: 细胞核 (nucleus); PC: 近端中心粒 (proximal centriole); SC: 精母细胞 (spermatocytes); SE: 支持细胞 (Sertoli cells); SG: 精原细胞 (spermatogonia); SP: 精子 (sperm); ST: 精细胞 (spermatid)

图版 (Plate)

迁入,使凹窝不断加深,最后定位于核凹窝深处;远端中心粒位于核凹窝入口处,与近端中心粒方向互相垂直(图版 :7)。远端中心粒的后端为基体结构,是鞭毛的起始部位,显示“9+2”结构,鞭毛与基体相接处有明显的鞭毛连接区(图版 :8),鞭毛外层的膜结构为质膜的延伸。早期精细胞的核质在近核膜处开始凝缩,逐渐聚合成粗大颗粒(图版 :6)。精细胞发育中期,核染色质浓缩范围逐渐扩大形成几层的粗大颗粒,核膜趋于模糊,胞质向一极迁移。精细胞发育后期,粗大颗粒和小颗粒的染色质不断凝集融合,形成较大块状的染色质均匀分布(图版 :8)。此外,精细胞胞质内线粒体也重新定位。首先,线粒体群形成马蹄形轮廓包围细胞核(图版 :9),进一步线粒体群完全环绕鞭毛基部,与轴丝纵轴相互90°排列。成熟精子线粒体数量少,鞭毛基部一般仅发现数个线粒体(图版 :7)。成熟精子分头部、中段和尾部(鞭毛)3部分(图版 :7)。头部主要为细胞核,核径1.6 μm左右。前端无顶体或其它结构(图版 :8)。中段较短,位于核后端,由中心粒复合体和袖套构成。袖套一侧肥厚,包含数个线粒体和囊泡,狭窄一侧的较少(图版 :7)。精子尾部(鞭毛)细长,近核端部分很短,长约1.0~1.2 μm,远离核端部分较长,长约3.5 μm以上。尾部横切面呈典型的“9+2”双联微管结构。

2.4 精巢中非生殖细胞的超微结构

支持细胞胞体拉长,胞核椭圆形,位于精小囊的外周,包围着同一发育阶段的精母细胞(图版 :10)。间质细胞则分布于小叶之间的间质组织中,胞体长形,胞质含丰富的线粒体和众多分泌颗粒状物质,核区电子密度极高,内呈泡状化结构(图版 :4)。边界细胞位于小叶壁上,胞体不规则延长包绕小叶,间断地分布于小叶基膜外,与生精细胞之间为一层基膜结构分隔(图版 :4)。类肌细胞位于精巢外膜层,胞体梭形,电子密度较支持细胞高。胞核周围有大量细丝存在,在质膜附近和胞质中含许多吞饮小泡。胞外具大量的胶原纤维,与其他类肌细胞互相连接(图版 :11)。成纤维细胞胞质内电子密度高,成群分布,在其周围还有许多支持细胞、间质细胞、血管等结构,但成纤维细胞与它们之间一般是通过基膜间接接触(图版 :3)。由内皮细胞互相镶嵌连接构成其管壁,形成毛细血管,腔内含有红血细胞,但较少发现管腔膨大成血窦腔结构(图版 :12)。

3 讨论

鳊精巢属典型的叶型结构^[2],精原细胞位小叶边缘,生殖细胞在分化过程中逐步向管腔中央移动,然后汇入输出管中,成熟精子在小叶腔和输出管内存在。在硬骨鱼类精巢中,类肌细胞与结缔组织中的成纤维细胞共同构成精巢外膜,主要起支持和保护作用^[3]。鳊精巢类肌细胞数量较多,可作类似肌丝的收缩运动,推测这与其较高的排精量有关。精巢中边界细胞的分布是不持续的,且数量较少,其生理机能和作用未明。间质组织中间质细胞则被认为是雄激素分泌细胞^[4]。鳊精巢中的间质细胞具有大量管泡化的线粒体和粗面内质网,在超微结构上具有产生类固醇激素的特征,因此被认为具有类似的功能。在哺乳类,支持细胞的作用已被证实具有支持、营养、分泌和吞噬等功能^[4]。也有研究报道鱼类精巢中的支持细胞也可能类似哺乳类那样分泌雄激素结合蛋白,也具有产生激素、运输、清除在生精细胞发育中脱落的细胞质残体和退化的生精细胞以及维持血睾屏障等作用^[5]。但鳊精巢中支持细胞是否具有类同的特性和功能还有待进一步证实。

鳊精子形成类似罗非鱼^[6],大致经历几个过程:(1)早期的精细胞期;(2)轴丝发生期;(3)细胞核的凝缩和旋转;(4)线粒体发生迁移等,或许这是鲈形目鱼类精子形成的一般模式。精子形成过程,仅精细胞核发生旋转,染色质也出现明显的变化。一般将动物精细胞染色质浓聚后的形态归纳为3类:颗粒状、纤维状和片状。对鳊精子形成过程的观察发现,精细胞的染色质经历由细小颗粒状、圆粗大颗粒状、无规则团块状、高电子密度均质状的浓缩过程,这与同属鲈形目的大黄鱼精子形成的特征也相同^[7]。精细胞变态成熟中染色质的变化最终都将使核体积降低到最低限度,使精子结构更趋稳定,便于受精过程的完成。

鳊体外受精,精子结构较为简单,头部不具顶体,与其它多数硬骨鱼类一样^[3,6,8,9],这是与其雌体成熟卵细胞具有受精孔的结构相对应。鳊成熟精子中细胞核占据头部的绝大部分,浓缩的核中可见一些空隙。在金鱼精子的细胞核中也有类同结构,这种结构被称为核空泡,并认为是因少数染色质未完全浓缩或浓缩时发生褶皱而形成^[3]。Billard等在硬头鳊中的研究则认为空泡可能是顶体的前身^[2]。鳊精子核中的空隙未具膜结构,应是少数染色质未完全浓缩造成。鳊精子的中段长度约为头长的1/2,线粒体数量偏少,但囊泡和糖原颗粒丰富。线粒体是精子运动时呼吸作用的主要场所,而囊泡和糖原颗粒则为贮能结构,有人认为囊泡是从精子细胞的高尔基体变化而来^[3]。体内受精的硬骨鱼类精子结构中中段线粒体比较多^[5],如褐菖鲈的就多达30~40个^[8],这可能与其精子运动而要较长时间的繁殖特性有关。鳊人工授精过程中,精液和卵子充分混合,1~2 min后卵子便会获得精子而受精^[1],精子运动需要的时间较少。鳊精子尾部细长,其纵切面的两侧形成波动膜的结构,并具较发达的侧鳍,一侧细长,另一侧短。波动膜是细胞质膜的延伸,一般硬骨鱼类的精子都具有此结构,与其体外受精的运动方式有关。一般认为侧鳍可以改善精子鞭毛的游泳效率,有利于提高受精率,但Afzelius则认为侧鳍对提高游泳率没有多大意义^[9]。我们认为鞭毛的侧鳍可能与精子运动过程的平衡作用有关。

参考文献:

- [1] 方展强,郑文彪,符路娣.不同生殖期鳊肝脏超微结构变化的观察[J].水生生物学报,2003,27(6):607.
- [2] BILLARD R. Spermiogenesis and spermatology of some teleost fish species[J]. *Reprod Nutr Sci Develop*, 1986, 26(4):877-920.
- [3] 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.
- [4] CHRISTANE M. The "blood-testis" barrier in anemotode and a fish: A generalizable concept[J]. *J Ultr Res*, 1980, 26(4):877-920.
- [5] GARDINER D M. Fine structure of the spermatozoon of the viviparous teleost, *Cymatogaster aggregata*[J]. *J Fish Biol*, 1978, 13:435-438.
- [6] 方展强.尼罗罗非鱼精子发生的超微结构研究[J].华南师范大学学报(自然科学版),1993(1):68-74.
- [7] 尤永隆.大黄鱼精子的超微结构[J].动物学报,1997,43(2):119-126.
- [8] 林丹军,尤永隆.褐菖鲈精细胞晚期的变化及精子结构研究[J].动物学研究,1998,19(5):359-366.
- [9] AFZELIUS B A. Fine structure of the garfish spermatozoon[J]. *J Ultr Res*, 1978, 64:309-314.

【责任编辑 黄玉萍】