

长江华溪蟹精子形成的研究 *

王 兰 堵南山¹⁾ 赖 伟¹⁾

(山西大学生命科学系, 太原 030006)

1) (华东师范大学生物学系, 上海 200062)

摘要 1994年9—11月, 对采自安徽省宁国县的长江华溪蟹(*Sinopotamon yangtsekiense*), 利用透射电镜技术, 并结合细胞化学方法, 研究了其精子形成过程。结果显示: 早期精细胞圆形, 胞质丰富, 内含大量内质网小泡及线粒体。核也为圆形, 较小。精细胞开始分化, 细胞膨胀为长椭圆形, 核质重新分布, 分别移向细胞的两端。精子的顶体由高尔基体产生, 其过程为: 高尔基体分泌产生囊泡, 继而形成原顶体囊, 进一步发育成顶体囊, 最后形成顶体。在顶体囊与核之间有膜复合体。中心粒位于核内面凹陷处。细胞化学反应显示, 核杯为 Feulgen 阳性, 顶体为 PAS 阳性。

关键词 长江华溪蟹, 精子形成, 超微结构, 甲壳纲, 十足目

精子的顶体在高等脊椎动物是由高尔基体形成的^[1], 在昆虫中也有类似的情形^[2]。然而, 典型的高尔基体物质在十足类甲壳动物中是缺乏的^[3—6]。到目前为止, 仅有 McCroan 曾在绿鳌虾(*Cambarus viridis*)的精原细胞和精母细胞中发现过高尔基体^[7]。但是, 长江华溪蟹精子的顶体却是由高尔基体形成的, 且高尔基体的形态十分典型。该研究在一定意义上反映了不同类群的种间差异及进化地位, 丰富了短尾派的研究内容。

1 材料和方法

长江华溪蟹于1994年9—11月采自安徽省宁国县。解剖雄蟹活体, 迅速取出精巢, 切成小块; 取出贮精囊, 一部分切成小段, 另一部分用玻璃匀浆器裂解。将以上材料分别进行双固定(2.5% 戊二醛和1% 铁酸), 梯度乙醇脱水至90%, 再换丙酮脱水。618环氧树脂包埋, 醋酸铀和柠檬酸铅双重染色, JEM-100CXII透射电镜观察。

细胞化学研究的材料, 用2.5% 戊二醛或 Carnoy 氏液固定, Feulgen 反应显示胞核, PAS 反应显示多糖。

2 结果

减数分裂完成时, 精细胞开始分化形成精子, 这一过程是连续而十分复杂的。为描述

* 该文是第一作者博士论文的部分内容。本文得到华东师范大学电镜室的徐俊美、季玲妹、倪 兵等先生的大力协助, 谨致谢忱。

1996-08-26收到。1998-07-14修回。

方便起见,通常将分化过程人为地分为若干时期。需要指出的是,即使在描述过程中其变化仍在发生,故难免存在局限性。

2.1 原顶体泡的出现(Proacrosomal vesicle appearance)

刚形成的精细胞为圆形(图版 I: 1)。精细胞开始分化,细胞由圆形变成椭圆形,细胞核随之膨大呈卵圆形,核内染色质变得疏松而着色浅,核质重新分布,分别移向细胞的两端。此时,在胞质内出现许多高尔基体囊泡(图版 I: 2),在核的前方,由高尔基体产生的囊泡正逐渐聚合成为一个大的泡状物,该泡即原顶体泡,泡内含有微弱的低电子密度的丝状物(图版 I: 3),这些丝状物即为原顶体囊内电子致密物的前身。高尔基体结构典型,不断向外分泌囊泡。在高尔基体周围分布有许多线粒体。在原顶体泡一侧出现膜复合体,由高尔基复合体、线粒体和内质网小泡等组成。中心粒位于膜复合体中(图版 I: 4, 5)。

2.2 原顶体囊形成期(Proacrosomal vesicle formation)

原顶体泡体积不断增大,其内部电子密度物也不断增强,直到泡内电子密度均等,成为原顶体囊。原顶体囊卵圆形,突出在外,使整个精细胞似小瓶状(图版 I: 4)。原顶体囊形成后,膜复合体被挤到原顶体囊与核之间的一侧,核变成长椭圆形。

2.3 顶体囊形成期(Acrosomal vesicle formation)

精细胞继续分化,核与原顶体囊逐渐靠拢,前者不断包裹后者,导致核变形而渐成杯状,这时精细胞开始卸弃大部分细胞质,包括高尔基体及一部分线粒体(图版 I: 6)。核膜与质膜彼此靠近,核内染色质均匀,电子密度较低。膜复合体也随之压为薄的一层,位于核与原顶体囊之间。伴随原顶体囊逐渐形成顶体囊,囊内物质不断分化,较致密的电子物质向边缘移动,在与核相对的一侧,密度物达到最大程度,形成一“弓”形结构,称顶体帽或头帽。在原顶体囊的近核面中央,由膜复合体随同低电子密度物一部分内陷,向前延伸形成顶体管的中央管部分;另一部分则形成顶体管的外周延伸部分,其中含有微丝状结构物质(图版 II: 7, 8)。在凹陷进行的同时,头帽处可见一些电子致密物质向下移动,直至达到离头帽约三分之一处才停留在顶体中央管的外侧,这就是顶体的丝状层,也称内层。丝状层的外侧为中间层,也称外层。顶体中央管继续前伸,直抵顶体帽。顶体管的中央管柱状,最前端呈圆锥形。在近顶体囊的核杯外缘有数个小泡,为线粒体泡。质膜与核膜贴近,但留有缝隙(图版 II: 10, 11)。

2.4 未成熟精子期(Immature sperm stage)

顶体的电子密度进一步增加,尤其是顶体帽,电子密度相当致密。顶体与核之间的膜复合体依然保留。核内质由均匀而变成网状,部分区域有少量的聚集团块存在(图版 II: 9)。

2.5 成熟精子期(Mature sperm stage)

顶体囊分化出丝状层和中间层,同时顶体帽越来越明显,但辐射臂尚未出现。膜复合体仍然存在,此处的核膜、质膜与顶体膜已融为一体,难以分辨(图版 II: 12)。顶体囊进一步发育成顶体,至此,精子成熟。

3 讨论

3.1 高尔基体

高尔基体作为细胞的主要胞器之一,在绝大多数动物细胞中都存在。高尔基体的主

要作用之一是形成部分动物(主要是脊椎动物)精子的顶体,然而,典型的高尔基体在十足目甲壳动物的精子发生中是缺乏的^[3—6,8—9],只有绿鳌虾的精原细胞和精母细胞出现过高尔基体^[7]。1983年,Pochon-Masson指出,在精子发生中,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^[5]。但是,在长江华溪蟹的精子形成过程中,我们清楚地观察到了高尔基体,并且结构非常典型。由此推测,高尔基体的存在与否和种间差异有关。这一显著特征是否为纯淡水生活的溪蟹所特有,还需对其它溪蟹作进一步证实。

3.2 顶体的来源

顶体作为受精时雄体必备的结构,其形态复杂,种与种之间也存在明显差异。有关十足类甲壳动物顶体的起源问题意见不一,Bowen、McCroan and Dan认为,和常规鞭毛精子一样由高尔基体产生^[7—10];Nath认为起源于线粒体^[11];Yasuzumi用电镜观察顶体的形成,认为由一些小的致密颗粒融合而成为顶体囊,但这些颗粒的出现与高尔基体和线粒体无关^[12]。多数学者较一致地认为,顶体可能起源于内质网小泡^[3—6,8—9]。与大多数十足类甲壳动物不同,而与Bowen、McCroan and Dan的研究结果一致,长江华溪蟹的顶体由高尔基体形成,而且高尔基体的形态十分典型。顶体的形成过程大致为:精细胞中高尔基体向外分泌囊泡,囊泡不断融合而成为大的囊泡,位于核的前方,泡内含有电子致密物质,这就是原顶体囊。之后,原顶体囊内电子致密度不断增强,同时,由膜复合体产生的低电子密度物质,在原顶体囊靠近核一端的中央内陷,一部分形成中央管,另一部分在顶体囊外周形成顶体管的外周延伸部分。由顶体囊再分化出头帽、丝状层和中间层,进而形成结构完整的顶体。

长江华溪蟹的顶体不具片层结构,只有丝状层和中间层,即内区(Inner region)和外区(outer region),但有些种类具有片层结构,1—8层不等^[4,12—14]。未发现在中央管内有穿孔器微管的存在。

3.3 细胞核

与堵南山、Reger研究报道一致^[3,9],在精细胞分化以前,细胞核为卵圆形或椭圆形。分化过程中,由于顶体的形成,核逐渐变扁而成为杯状。核仁在精细胞以前明显存在,之后就消失不见。由于多余细胞质的舍弃,核膜与质膜相互靠近,非但没有融合,而且两者之间尚留有缝隙,这与Langreth的报道不同^[8]。

3.4 膜复合体

精子形成过程中膜复合体的来源也有争议。Kaye等认为,拟鳌虾(*Cambaroides japonicus*)的膜复合体由内质网衍生而成^[2];Langreth的观点与Kaye相似^[8],但在内质网池明显融合形成膜复合体的同时伴随着核糖体的丢失;Reger认为膜复合体由内质网和核膜形成^[9]。长江华溪蟹的膜复合体来源于高尔基复合体膜、质膜和核膜等。与李太武的报道有异^[4],我们观察的膜复合体在精子形成过程中始终是连续的,没有发现断断续续的情形。

参 考 文 献

- [1] Burgos M H, Fawcett D W. An electron microscope study of spermatid differentiation in the toad, *Bufo arenarum* Hensel. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1956, **2**:223
- [2] Kaye J S. Acrosome formation in the house cricket. *J. Cell. Biol.* 1962, **12**:411
- [3] 堵南山, 薛鲁征, 赖伟. 中华绒螯蟹精子的研究 II 精子发生, 海洋与湖沼, 1988, **19**(1): 71—75
- [4] 李太武. 三疣梭子蟹精子的发生及超微结构研究, 动物学报, 1995, **41**(1): 41—47
- [5] Pochon-Masson J. In reproductive biology of invertebrates, Vol. II: Spermatogenesis and sperm function. Ed. by K. G. Adiyodi & R. G. Adiyodi. John Wiley & Sons Ltd. *Arthropoda-crustacea*. 1983, Pp:407—499
- [6] Yasuzumi G I, Kaye G K, et al. Nuclear and cytoplasmic differentiation in developing sperm of the crayfish, *Cambaroides japonicus*. *Z. Zellforsch.* 1961, **53**:141
- [7] McCroan J E. Spermatogenesis of the crayfish, *Cambarus viridis*, with special reference to the Golgi material and mitochondria. *Cytologia*, 1940, **11**:136—155
- [8] Langerth S G. Spermatogenesis in cancer crabs. *J. Cell Biol.* 1969, **43**:575—603
- [9] Reger J F. Studies on the fine structure of spermatids and spermatozoa of the crab, *Pinnixa sp.* *J. Morph.* 1970, **132**:89—100
- [10] Bowen R H. Further notes on the acrosome of the animal sperm. The homologies of nonflagellate sperms. *Anat. Rec.* 1925, **31**:201
- [11] Nath V. The spermatid and the sperm of the crab, *Paratelphusa spinigera*. *Quart. J. Microsc. Sci.* 1932, **75**:543
- [12] Yasuzumi G. Spermatogenesis in animals as revealed by electron microscopy VII. Spermatid differentiation in the crab, *Eriocheir japonicus*. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1960, **7**:73—87
- [13] 堵南山, 赖伟, 薛鲁征. 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, 1987, **18**(2): 119—125
- [14] 上官步敏, 李少箐. 锯缘青蟹精子超微结构的研究, 动物学报, 1994, **40**(1): 7—11
- [15] 王 兰, 张小民. 背角无齿蚌晶杆的扫描电镜观察, 水生生物学报, 1996, **20**(1): 63—65
- [16] 王 兰, 堵南山, 赖伟. 长江华溪蟹输精管的超微结构与精液形成的研究, 海洋与湖沼, 1996, **27**(4): 373—379

STUDIES ON SPERMIATION OF A FRESHWATER CRAB *SINOPOTAMON YANGTSEKIENSE* (CRUSTACEA DECAPODA)

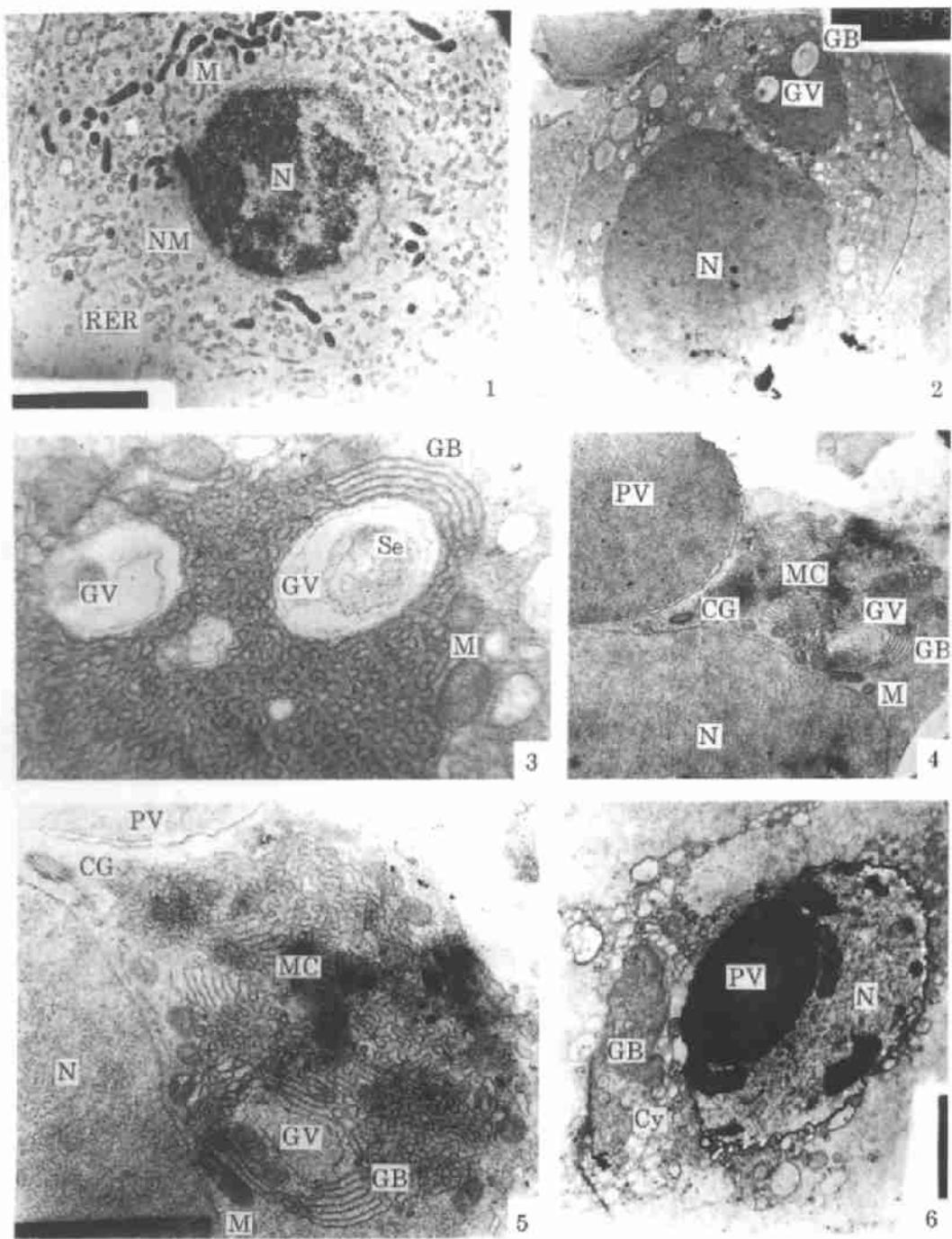
Wang Lan Du Nanshan¹⁾ and Lai Wei¹⁾

(Shanxi University, Taiyuan 030006)

1) (East China Normal University, Shanghai 200062)

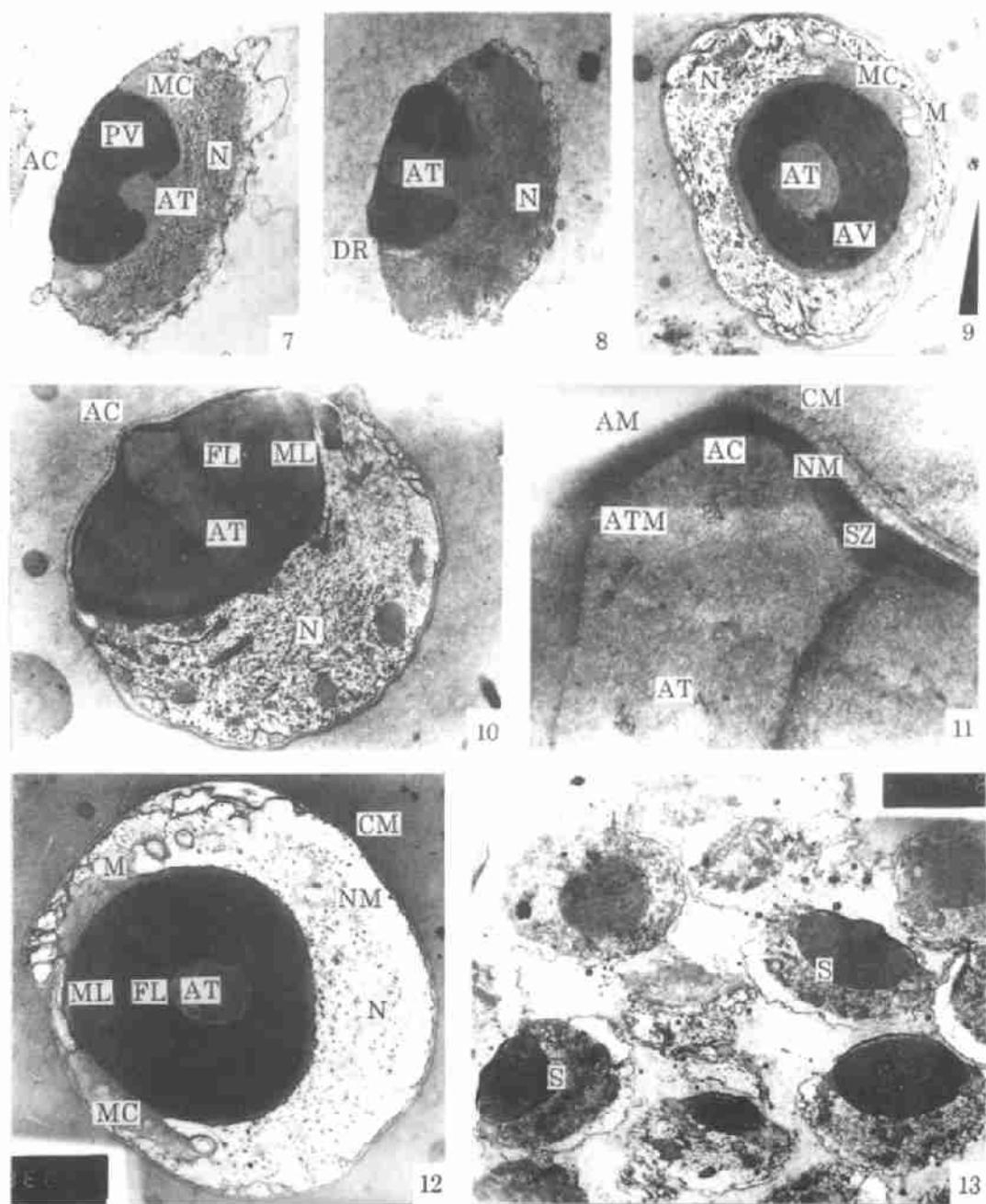
Abstract From September to November in 1994, the freshwater crab *Sinopotamon yangtsekiense* collected from Anhui Province were observed in detail with transmission electron microscope (TEM) and cytochemical methods. The early spermatid is small with an oval shaped nucleus. The spermatid began to differentiate, and changed into longer elliptical shape, nuclear-plasm redistributed and moved towards two ends of the cell. The acrosome of sperm derived from Golgi body. The vesicles which produced from Golgi body aggregated to form a large proacrosomal vesicle. The proacrosomal vesicle further develop into acrosomal vesicle. The nuclear membrane changes into a cup-like shape and surrounds the acrosomal vesicle, between the two parts, and then a layer of membrane complex appears. The nuclear cup was positive and acrosome PAS positive.

Key words *Sinopotamon yangtsekiense*, Spermiogenesis, Ultrastructure, Decapoda, Crustacea



1. 刚形成的精细胞, 示细胞核(N)、核膜(NM)、粗面内质网(RER)和线粒体(M), $\times 5000$; 2. 开始分化的精细胞, 示高尔基体(GB)和高尔基体囊泡(GV), $\times 5000$; 3. 图2放大, 示高尔基体囊泡中的分泌物(Se), $\times 14000$; 4. 精细胞已分化出原顶体囊(PV), 示膜复合体(MC)和中心粒(CG), $\times 6700$; 5. 图4放大, $\times 8000$; 6. 精细胞分化中丢弃的细胞质(Cy), $\times 5000$

1. Forming spermatid, showing nucleus(N), nuclear membrane(NM), rough endoplasmic reticulum(RER) and mitochondrial(M), $\times 5000$; 2. Differentiating spermatid, showing Golgi body(GB) and a lot of Golgi vesicle(GV), $\times 5000$; 3. Magnification of Fig2, showing secretion(Se) in Golgi vesicle, $\times 14000$; 4. Formation of proacrosomal vesicle(PV), showing membrane complex(MC) and central granule(CG), $\times 6700$; 5. Magnification of Fig4, $\times 8000$; 6. Cytoplasm(Cy) abandoned in spermiogenesis, $\times 5000$



7. 膜复合体(MC)开始内陷形成顶体中央管, $\times 4000$; 8. 顶体中央管继续形成, 示沟环(DR), $\times 4000$; 9. 未成熟精子横切, 示顶体管(AT)及顶体囊(AV)等, $\times 5000$; 10. 顶体囊已分化出顶体帽(AC)及亚帽带(SZ)等结构, $\times 6700$; 11. 图 10 放大, 示亚帽带(SZ)、顶体膜(AM)、顶体管膜(ATM)、核膜(NM)和细胞质膜(CM), $\times 10000$; 12. 成熟精子横切, 示丝状层(FL)和中间层(ML)等, $\times 6700$; 13. 储精囊内成熟精子(S), $\times 2000$

7. Formation of acrosome central tubule by membrane complex(MC), $\times 4000$; 8. Showing the acrosome central tubule is being formed continuously and ditch ring(DR), $\times 4000$; 9. Transverse section of immature sperm, showing acrosome tubule(AT) and acrosome vesicle(AV), $\times 5000$; 10. The formation of acrosome vesicle, showing acrosome cap(AC) and subcap zone(SZ), $\times 6700$; 11. Magnification of Fig10, showing subcap zone(SZ), acrosomal membrane(AM), acrosomal tubule membrane(ATM), nuclear membrane(NM) and cytoplasmic membrane(CM), $\times 10000$; 12. Transverse section of mature sperm, showing fibrous layer(FL) and middle layer(ML), $\times 6700$; 13. The mature sperm(S) in seminal vesicle, $\times 2000$