

长吻鲈精巢及精子结构的研究^{*}

张耀光 罗泉笙 钟明超^{**}

(西南师范大学生物学系, 重庆 630715)

提 要

长吻鲈精巢高度分支呈指状。后 1/3 紫红色, 由上皮细胞组成, 既不产生精子, 也不贮存精子。精巢的内部结构为叶型, 由体细胞和生殖细胞构成, 小叶的基本单位是小囊。精子头短而圆, 主要为核占据, 无顶体, 核凹窝十分发达, 有中心粒帽; 尾极长, 具侧鳍, 轴丝基部有发达的囊泡状结构和线粒体。

关键词 精巢, 精子, 组织和亚微结构, 长吻鲈, 鲈形目

硬骨鱼类精巢和精子结构的研究, 国内外已有报道。有关鲈形目鱼类精子的研究只见于国外的工作^[1]。我国有鲈形目鱼类近 100 种, 有关其精巢和精子结构的特点尚未见详细资料。长吻鲈(*Leiocassis longirostris* Gunther) 隶属鲈形目的鲈科(Bagruidae), 是我国特产的名贵鱼类。1981 年以来, 我们已对其亲鱼驯养、人工繁殖、鱼苗培育、胚胎和胚后发育及环境因子对早期发育的影响等作过报道, 但精巢和精子的组织学、细胞学结构特征还不清楚。为此, 结合光镜、扫描电镜、透射电镜对长吻鲈精巢和精子结构进行了研究, 以期为提高人工繁殖中的受精率提供依据, 并为我国鲈形目鱼类雄性生殖细胞的研究积累资料。

材料和方法

早期精巢从人工繁殖培育的幼鱼取得, 其余各龄雄鱼均捕于嘉陵江合川至北碚段, 经科研鱼池短暂蓄养后取材。

光镜 剖开鱼体腹部取出整个精巢, 分前、中、后 3 段切取小块组织(幼鱼取整个精巢)投入 Bouin 氏液中固定 24—48h, 石蜡包埋, 切片厚度 6—8 μ m, H. E. 或改良的 Mallory 氏三色法染色, Nikon 显微镜观察并照相。目测微尺计量。

扫描电镜 取约 1 \times 1 \times 3mm³ 小块精巢组织和挤出的乳白色精液分别入 2.5% 戊二醛固定 2h, 小块精巢组织经缓冲液洗涤后再用 1% 的锇酸后固定, 另取少量含精子的固定液滴到小块铝箔上, 放入保湿度的培养皿内, 置冰箱中过夜。两者经系列酒精脱水, 临界点干燥, 镀金, KYKY 1000B 型扫描电镜观察, 加速电压 5—20KV。

^{*} 国家自然科学基金资助项目(No. 3880117)。电镜观察得到西南农业大学中心实验室兰景华和西南师大电镜室戴大临同志的协助, 特致谢忱。
^{**} 现在山东大学生物系。
1991 年 3 月 15 日收到。

透射电镜 取 1mm^3 小块精巢组织经 2.5% 戊二醛和 1% 锇酸双重固定, 系列酒精脱水, 丙酮置换, 国产环氧树脂 650 聚合包埋, LKB-5 型超薄切片机切片, 乙酸氧铀和柠檬酸铅双染色, JEM-100CX 和 H-600 型电镜观察并拍照。

结 果

1. 精巢的外部形态

长吻鮠精巢位于肾脏腹面, 消化道背方, 由精巢系膜连于体壁, 前伸于鳔中部, 后达体腔后壁, 呈不规则型, 靠中线侧为长薄带状, 向外侧伸出扁指状分支, 分支上亦有细分支, 每侧分支可达 60 个左右。左右精巢往后合为一体, 以一共同的输精管开口于尿殖突上, 合并后的分支呈紫红色, 生殖季节尤为膨大, 该部分约占整个精巢长度的 $1/3$ (图版 I : 1)。

幼鱼的 I 期精巢细线状, 贴于腹腔背壁, 边缘即出现齿状突起; II 期精巢略为增宽, 齿状突起变为十分显著的细指状, 血管不明显; III 期精巢粉红色, 分支更甚, 血管明显, 合并后的部分深红色; IV 期精巢乳白色, 表面血管可分辨; V 期精巢乳白色, 各分支十分饱满, 无明显血管, 挤压亲鱼腹部, 没有或仅有少量乳白色精液流出; 参与繁殖后的雄鱼精巢略有萎缩, 表面淡红色。

2. 精巢的内部构造

光镜下可分为外膜和实质两部分。外膜被覆于精巢外表, 厚薄不均, 约 $12.5-118.75\mu\text{m}$, 主要由最外的薄层浆膜及内面的结缔组织和分布于两者之间的胶原纤维、弹性纤维构成。浆膜被 Mallory 氏法染成深红色, 纤维染成深蓝色。H. E. 染色中浆膜亦成深红色, 而纤维呈淡红色(图版 I : 2)。结缔组织内主要是呈梭形的成纤维细胞。外膜的内面是生殖上皮, 在两种染色中均为深红色, 厚度略薄于浆膜。外膜的纤维及结缔组织向内延伸入实质构成网络状, 形成精小叶壁, 生殖上皮亦伴随而行, 形成小叶壁内缘, 精原细胞即在此形成和发育。外膜内有丰富的血管和血细胞。精巢实质是由包含着生殖细胞的小叶及小叶间的间质所组成。每个小叶又是由多个小囊组成的(图版 I : 3), 小囊内为处于同一发育阶段有精原细胞、精母细胞或精子细胞。当精子细胞变态为成熟的精子时, 小囊壁破裂, 精子释放入小叶腔中, 小囊界限消失, 精子连成一片而成涡旋状(图版 I : 4)。小叶长形、圆形或不规则, 大小悬殊, 边缘有间断分布的边界细胞(图版 I : 9)。小叶间间质主要有微血管、成纤维细胞, 少数间质中有 Leydig 氏细胞, 3—5 个一起, 细胞长椭圆形, 直径 $8.75-12.5\mu\text{m}$, 核径 $10.0 \times 3.75\mu\text{m}$ 。

精巢的紫红色部分与前部结构不同, 其中不产生生殖细胞, 也不贮存精子。一个一个的小囊通过结缔组织连接成网眼状, 小囊依不同发育状况而为空腔或被分泌物所充塞。非生殖期, 囊壁细胞短柱状, 单层或双层, 胞间界限清楚, 胞质中很少分泌颗粒, 细胞端部的刷状缘明显, 囊腔中无分泌物(图版 I : 5)。接近繁殖期, 囊壁细胞变为单层高柱状, 个别地方间杂有复层扁平细胞, 细胞界限不清楚, 胞质内充满分泌颗粒, 核靠近囊腔, 椭圆形或近圆形, 核膜清晰, 有一个大核仁, 细胞端部的刷状缘更显著, 囊腔中开始富积分泌物(图版 I : 6), 整个细胞嗜伊红。细胞为全泌型, 当囊壁细胞消失, 囊腔中被分泌颗粒充满, 只留下结缔组织框架(图版 I : 7, 8), 表明已进入繁殖期, 参与繁殖时, 分泌物成为精液的一

部分排出体外。

用透射电镜观察,成纤维细胞长梭形,核所占比例较大,核质分布比较均匀,但在近核膜处比较致密,胞质内有高尔基体、线粒体等多种细胞器。边界细胞紧挨在基膜外缘间断分布,其细胞核修长、不甚规则,核质较为致密,胞质中有滑面内质网及囊泡状结构(图版 I :10)。小叶间的 Leydig 氏细胞的细胞核长椭圆形,核质致密,胞质内含有较多的光滑内质网、线粒体、高尔基体等细胞器(图版 I :11)。在小囊外周还有一些支持细胞。支持细胞核位于细胞基部,表面凹突不平,核质内有致密小体,胞质中有丰富的滑面内质网和粗面内质网,高尔基体体积较大,溶酶体近球形,体积较小,另外还有较多排列整齐的微管,细胞的近心端呈变形虫状外突内凹,远心端伸达管腔腔面(图版 I :12)。

3. 精子的超微结构

扫描电镜下,一个分支的横断面上精子紧密的充塞于小叶腔中,排列毫无规则。在较稀疏的部位,可见每一个精子由头、中片、尾三部分构成(图版 II :16,17)。中片外观极短,长 $0.27\mu\text{m}$,似头部后端向后突起,中部略凹陷。尾极长,达 $51.2\mu\text{m}$,是头长的 30 倍左右,鞭毛均从中片一侧向后伸出(图版 II :16)。

透射电镜观察表明,精子的头部由致密的核和内陷的中片组成,核占据头的大部分,电子密度大,染色质呈颗粒状。核中常存在因少数染色质未完全浓缩或浓缩时发生褶皱而形成的核空泡,其电子密度很稀。无顶体,核外由双层单位膜组成的核膜和质膜包裹,核外膜和质膜呈波状起伏(图版 II :13,14,19)。在核膜与质膜之间有少量分散存在的小液泡。核的后缘在其长度约 $5/6$ 的部位由于近心中心粒向核方向迁移,向内深深地凹陷形成核凹窝(Fossa),核膜随之内陷,而质膜则随中片后行(图版 II :19)。内陷的周界往后和后段无核的部分为中片。在纵切面上,近侧中心粒位于核内陷的深处,其外被环状的中心粒帽(Gentriolar cap)包裹,中心粒帽与核之间有微丝相连(图版 II :13,14,19)。近侧中心粒后为基体及由基体向后发出的轴鞭毛,鞭毛与基体相接处有明显的鞭毛连接区(图版 II :13,19),轴鞭毛的两侧可见纵行管状结构(微管)和其间的小泡。线粒体近圆形,位于中片后段轴鞭毛的周围,纵切面上左右各有从前到后排列有序的 4 个线粒体(图版 II :13,14,19),横切面上可见 4 个(图版 II :15)。近鞭毛基部有膜系统围成的囊泡状结构,囊泡内常有颗粒状物质存在(图版 II :15),线粒体围绕于囊泡外周。鞭毛由中心粒向后侧伸出。中片包含中心粒、线粒体、囊泡状结构和糖原颗粒等多种细胞器。

精子的尾部很长,由单一的鞭毛组成,横断面上鞭毛为典型的“9+2”型双联微管结构,鞭毛的两侧有发达的侧鳍(Lateral fin),从位置上看,侧鳍总是位于并列的两个中央微管的平行线上。侧鳍系由包围在鞭毛轴丝外的膜系统向两侧扩展而成(图版 II :18)。

讨 论

1. 精巢的结构特点 长吻鲈精巢高度分支呈指状,后 $1/3$ 左右合为一体,呈紫红色,与一般硬骨鱼类精巢呈长形不分支,仅尾端合并成 Y 型,汇合成很短的输精管不同。但就内部结构特点来看仍属叶型^[2]。长吻鲈精巢结构的另一特点是只有前 $2/3$ 产生精子,后 $1/3$ 的所有分支完全由结缔组织和上皮细胞分隔而成的囊腔所组成,不产生也不贮存精

子。上皮细胞的发育经过短柱状—高柱状—全分泌三个过程,胞质中内含物亦从无到有至全部释放入管腔中。分泌物似胶状质,排精时可以起到稀释精液的作用。该结构与茴科鱼类相似^[3],亦与板鳃类的储精囊类似。这些指状分支可以把它看作是输精管的多个突起。由此可以看出,成熟的精子主要位于精巢的前中段,必须借助体壁肌肉的有力收缩、增加腹压及精巢自射的收缩,才能把精子通过较长的输精管与后段分泌物一起排出体外。由于高度分支每次排出的精子量是很有限的,而精子数量稀少,可能是受精率不高的重要原因。经人工催情,在池中能正常发情的雄鱼也很难挤出乳白色精液。我们曾多次挤卵、挤精作人工授精均未成功,与精子巢构造特殊是分不开的。精巢后段分泌物的特性及与精子的活动和受精率有否关系还不清楚。

2. 精巢的细胞组成 长吻鲈精巢主要由体细胞和生殖细胞构成。体细胞包括成纤维细胞、边界细胞、支持细胞、Leydig氏细胞、小叶间质中构成微血管的内皮细胞和血细胞等。边界细胞在基膜外间断分布,与金鱼相同^[4]。支持细胞通常是单层包围在生殖细胞团外,精子形成,小囊破裂,四周便没有支持细胞^[5]。根据支持细胞的结构特点,结合其它硬骨鱼类的研究结果推测,长吻鲈的支持细胞亦具有支持、运输、营养、吞噬、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产生激素与维持血睾屏障等作用,为生精细胞的发育与分化提供适宜的微环境,保证精子发生的正常进行。Leydig氏细胞是70年代才发现的,存在小叶间质细胞之间^[6]。长吻鲈的Leydig氏细胞较少,从超微结构特征分析,可能与其它鱼类一样,也具有产生激素的功能。生殖细胞包括精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精子细胞和成熟的精子。

3. 精子的超微结构 硬骨鱼类的精子是比较原始的,体积较小,头部圆形或锥体状,主要为核所占据,没有顶体,一个中片通常含有4个线粒体,由中片向后伸出一个长长的尾部。长吻鲈的精子除具备一般硬骨鱼类精子的特征外,尚有其自身的特点,主要表现在:1)包围在核外的核膜和质膜是彼此分离的,核内膜与核质紧贴,与一般认为核膜和质膜互相融合成外被^①有别。2)核凹窝十分发达,凹入深度约占核长径的5/6。在核凹窝内,基体向后伸出微管成为鞭毛中轴,鞭毛与基体相接处有明显的鞭毛边接区,中心粒上方有环状的中心粒帽。核凹窝可以起到关节窝的作用,以减少鞭毛运动时对精子头部的震动,中心粒帽与核之间有微丝把中心粒间连接到核上,又加强了精子头尾的整体性,这种微丝既可以分散鞭毛运动时对头部的压力,也起到了细胞骨架的作用,以维系中片的形态。与发达的核凹窝相适应,精子亦具发达的中片。一般认为具有发达的核凹窝和中片,是体内受精鱼类精子的特征^[7]。3)由于中片深度内陷于核凹窝中,精子外观无典型的颈部。从纵、横切面上看,中片基部的线粒体可达16个,是一般鱼类的4倍,与鲶类中的叉尾鲌(*Ictalurus punctatus* Rafinesque)类似。另外,在轴丝外侧、线粒体内侧有由膜系统构成的囊泡状结构,其为空泡状或含有颗粒状物质,推测这一囊泡可能是一种储能结构,为精子变态和变态后的精子提供营养物质和能量。现已证实,在核内、中片和尾部亦有作为能量来源的糖原颗粒存在,可以为贮存或排出后的精子提供能量为源。4)长吻鲈精子的尾部极长并具有发达的侧鳍(图版Ⅱ:18)。Stoss认为侧鳍可以改善精子鞭毛的游泳效率^[8],有利于

① 郑曙明,1989。铜鱼卵巢和精巢的显微和超微结构研究。硕士学位论文。

提高受精率。而 Afzelius 则认为侧鳍对提高游泳效率没有多大意义。我们赞同 Stoss 的观点,鞭毛是精子运动的主要器官,线粒体可以在精子运动时提供能量,发达的侧鳍显然可以增大精子与水的接触面,提高游泳速度。5)核空泡普遍存在于多种鱼类精子的核中,但它们的生理意义尚未确定。核中部的核空泡可能是染色质浓缩时出现褶皱的结果,而核边缘部的核空泡可能是因为染色质尚未完全浓缩形成的。长吻鲮精子的核中亦存在核空泡。

参 考 文 献

- [1] Poirier G R, Nicholson N. Fine structure of the testicular spermatozoa from the channel catfish *Ictalurus punctatus*. *J. Ultr. Res.*, 1982, **80**:104—110.
- [2] Billard B. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reprod. Nutr. Develop.*, 1986, **26**:877—920.
- [3] 孟庆闻、苏锦祥、李婉端. 鱼类比较解剖. 北京:科学出版社. 1987:262—279.
- [4] 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. 水生生物学报, 1990, **14**(3):233—238.
- [5] 管汀鹭. 金鱼精巢支持细胞间连接和血睾屏障. 实验生物学报, 1990, **23**(1):29—39.
- [6] Grier H J. Aspects of germinal cyst and sperm development in *Poecilla latipinna* (Teleostei): Paecilidae. *J. Morph.*, 1975, **146**:229—250.
- [7] Afzelius B A. Fine structure of the garfish spermatozoon. *J. Ultr. Res.*, 1978, **64**:309—314.
- [8] Stoss J. Fish gamete preservation and spermatozoon physiology (In: Fish physiology. Vol. 8B, 305—350. Hoar W S., Randall D J and E M eds). New York: Academic Press. 1983: 307—308.

STUDIES ON THE STRUCTURE OF TESTIS AND SPERMATOZOON IN *LEIOCASSIS LONGIROSTRIS*

Zhang Yaoguang, Luo Quansheng and Zhong Mingchao

(Department of Biology, Southwest China Teachers University, Chongqing 630715)

Abstract

This paper describes the structure of testis and spermatozoon in the Chinese freshwater catfish, *Leiocassis longirostris*. The testes are branched into finger-like structures. The posterior portion of the testis is purple and is composed of simple columnar epithelium. This purple portion does not produce or contain spermatozoa. The testis has a lobular type of organization and consists of somatic and germinal cells. The somatic cells in the testis include fibroblasts, boundary cells, Sertoli cells and Leydig cells. The lobule is composed of cysts and the germinal and Sertoli cells in the cysts. The Leydig cells are located between the lobules. The germinal cells include spermatogonia, spermatocytes, spermatids and spermatozoa.

The gamete consists of a head, a mid-piece and a tail. The head is short, round or oval in shape, containing a nucleus but no acrosome. The nuclear fossa is very developed. The tail is very long, containing lateral fins. The spermatozoa have rich sacciform structure and mitochondria in the base of flagellar.

Key words Testis, Spermatozoon, Ultrastructure, *Leiocassis longirostris*, Siluriformes

图版说明

图版 I

1. 长吻鲈精巢外形照片,U:膀胱,×1/2; 2. 精巢切片示外膜及精小叶,B:血管及血细胞,L:精小叶,箭头示浆膜,×100; 3. 精小叶及其精小囊,可见次级精母细胞、精子细胞及精子,×214; 4. 发育成熟的精小叶,小囊破裂,精子连成一片呈涡旋状,×54; 5—8. 精巢紫红色部分切片。5. 发育早期,×54; 6. 发育中期,×214; 7. 发育晚期,×214; 8. 繁殖期,×214; 9. 精小叶,示边界细胞(▲),×214; 10. 边界细胞,N:细胞核,×7440; 11. Leydig细胞,N:细胞核,M:线粒体,×12210。

1. A external picture of the testis of *Leiocassis longirostris*, U: urinary bladder. $\times \frac{1}{2}$; 2. A section of testis, showing the membrane and lobule of testis. Arrow; external layer of membrane; B: blood vessel and cells; L: lobule. $\times 100$; 3. A lobule and the cysts in it, showing secondary spermatocytes, spermatids and spermatozoa. $\times 214$; 4. A section of testis at the stage of complete maturation of spermatozoa. The lobule is filled with mature spermatozoa. $\times 54$; 5—8. Four sections of the purple part of the testis, showing four developmental stages. 5. Early stage of development. $\times 54$; 6—8. middle, late and ripe stages. $\times 214$; 9. A lobule, showing the boundary cell (triangle). $\times 214$; 10. A boundary cell. N: nucleus. $\times 7440$; 11. Leydig cell. M: mitochondria; N: nucleus. $\times 12210$.

图版 II

12. 支持细胞及发育中的生殖细胞,N:支持细胞的核,溶酶体(↑),Rer:粗面内质网,M:线粒体,×13320; 13—14. 精子纵切,示核(N)。中心粒(C)、中心粒帽(Cc)、微丝(↑)、线粒体(M)及囊泡(V),×30600; 15. 精子横切,示线粒体(M)、细胞核(N)、囊泡(V),×30240; 16—17. 精子扫描电镜照片,鞭毛(▲),16,×6875; 17,×10000; 18. 精子尾段横切电镜照片,示微管及侧鳍,×134900; 19. 近成熟精子纵切,示中心粒(C)、中心粒帽(Cc)、微丝(↑)、鞭边连接区(▲)、线粒体(M)、细胞核(N)、质膜(Pm)和滑面内质网(Ser),×30600。

12. Sertoli cell and developing germinal cells. Arrow; lysosomes; M: mitochondria; N: nucleus of sertoli cell; Rer: rough endoplasmic reticulum. $\times 13320$; 13, 14. Sagittal section of oval and round spermatozoa showing nucleus (N), centriole (C), centriolar cap (Cc), mitochondria (M) and vesicles (V). Arrow indicates projections between the cap and nuclear membrane. $\times 30600$; 15. Cross section of spermatozoon showing nucleus (N), mitochondria (M) and vesicles (V). $\times 30240$; 16, 17. Scanning electron micrograph of oval and round spermatozoa, triangle showing flagella. 16, $\times 6875$; 17, $\times 10000$; 18. Cross section through tail showing microtubules and lateral fins. $\times 134900$; 19. Sagittal section of a spermatozoon that is not completely mature, showing centriolar cap (Cc), centriole (C), mitochondria (M), nucleus (N), plasma membrane (Pm), smooth endoplasmic reticulum (Ser), microfilament (arrow) and flagella joint area (triangle). $\times 30600$.



