

文昌鱼精子发生过程中的超微结构研究*

林加涵 陈细法 汪德耀
(厦门大学)

提要 本文在超微结构水平上研究文昌鱼 (*Branchiostoma belcheri* Gray) 精子发生过程中细胞形态结构的变化和细胞器的演变规律。观察到精细胞核形态变化的特点、线粒体的演变及其原始结构形式。同时,也观察到精细胞变态过程中高尔基体的演变、顶体的形成及超微结构的特点和微管的重组。此外,我们还首次观察到尾丝外膜上有特殊的刺状结构。对以上观察结果,进行了讨论。

动物精子发生是生物学中重要的问题之一,许多学者进行这方面的研究和评论^[5,11]。但是,对于在进化上有着特殊地位、属于脊索动物头索类的文昌鱼精子发生的研究极少。意大利学者 Baccetti 等^[4]曾经对意大利拿波利 (Naples) 海湾的文昌鱼 (*Branchiostoma lanceolatum* L.) 的精子超微结构作了简要叙述,而且也没有深入研究其发生过程。本文应用电子显微镜,对厦门产的文昌鱼 (*Branchiostoma belcheri* G.) 的精巢进行观察,探讨其精子发生过程中细胞形态结构的变化规律和细胞器的演变规律及其在进化上的地位。

一、材料与方 法

取三四月份厦门丙州海域文昌鱼的雄性生殖腺为材料,经2.5%戊二醛前固定二小时,1% OsO₄ 后固定二小时,醋酸铀块染,系列酒精脱水,618*及812*环氧树脂包埋,瑞典 LKB-8800V 型超薄切片机切片,柠檬酸铅复染,H-500 型和 JEM-100CX 型电镜观察。

二、观 察 结 果

1. 生精细胞的超微结构

生精细胞位于生精小管的基膜上,是一群处于不同分化阶段的幼稚细胞,按其超微结构的特点可分为以下几类。

(1) 精原细胞:细胞呈卵圆形,长短轴之比约为2:1,其长边紧贴在基膜上。按其细胞器分布情况,又可分为A、B两种类型。A型精原细胞呈椭圆型,长径约5.5 μ m,短径约3.4 μ m,细胞核较大,长径约3.4 μ m,短径约1.8 μ m;核染色质绝大部分为均匀细颗粒状,极少量聚集成高电子密度的聚集体,附着在核内膜的核孔附近;核仁大而松散,常边

* 陈巧、郭建晖同志参加部分工作。本研究承上海第一医学院,江西省医学科学研究所电镜室同志的大力支持,谨致谢忱。

收稿日期:1986年4月20日。

集;细胞质较少,电子密度较高,含有少量体积小、嵴少的线粒体;游离核糖体数量相对多;内质网很少;高尔基体不发达,呈小泡状聚集。仅从超微结构看,是属于干细胞类型。B型精原细胞比较大,长径约 $6\mu\text{m}$,短径约 $4.2\mu\text{m}$ 。细胞核体积相应增大且呈圆形,居中位置;团块状的染色质虽然较多,但仅分布在核内膜和核孔的周围(图版 I:1);整个细胞质电子密度明显增加,系由高尔基液泡、线粒体、游离核糖体和内质网数量增多所致。

(2) 初级精母细胞:初级精母细胞是由B型精原细胞发育而来的,因此,其早期阶段的超微结构十分类似B型精原细胞。但是,初级精母细胞体积明显增大,长径约 $9\mu\text{m}$,短径约 $4.8\mu\text{m}$,是各种生精细胞中最大的细胞。细胞核也随之增大,长径约 $5.8\mu\text{m}$,短径约 $3.5\mu\text{m}$;核质虽然以分散细颗粒为主,但团块状明显增多;偶尔可见粗线期染色体;核仁由高电子密度的细颗粒聚集而成;核外膜常呈波浪状,使核周腔明显扩张;细胞质中线粒体数目明显增多,嵴呈板状,但较短,基质电子密度较低;高尔基液泡数量增多,但电子密度不高;此外,还见到中等数量的核糖体、少量溶酶体和粗糙型内质网(图版 I:2)。

(3) 次级精母细胞:次级精母细胞是由初级精母细胞经减数分裂而产生的,其体积约为初级精母细胞的一半。细胞核呈卵圆形,位于细胞中央;团块状的染色质颇多;核仁虽小,但电子密度较高,这样,使得整个核的电子密度明显高于初级精母细胞,这也是两者的主要区别;细胞质中细胞器结构与初级精母细胞基本上相似,但数量相对少。

2. 精子形成过程中的超微结构

(1) 精细胞:精细胞是由次级精母细胞经减数分裂 II 产生的。它的出现,标志着生精细胞分裂的终止。精细胞体积颇小,呈卵圆形,核椭圆形,染色质较均质,且电子密度高,核仁不明显,呈团块状。细胞质中充满泡状平滑型内质网和发达的高尔基体,它们部分融合成较大的扁平囊,其间充满高电子密度物质;此外,还见小而圆的线粒体,其嵴不发达,长度不过中轴线。精细胞经过一系列形态变化,成熟为精子。在变态早期阶段,细胞核伸长,染色质密集并浓缩。细胞质中细胞器极性分布;高尔基液泡均集中在核的一端(图版 I:3);两个互相垂直的中心粒和部分线粒体则移向核的另一端(图版 I:4)。变态中期,高尔基液泡进一步融合,形成多层囊泡,呈倒“U”形覆盖在核的一极,称为前顶体,内含高电子密度的颗粒状物质(图版 I:5);核另一端胞质中的线粒体围绕中心粒排列,且部分彼此融合成体积大、嵴发达的线粒体;在核附近见环形排列的微管(图版 I:5, 6);细胞质其余部分开始解体,出现空泡样。到变态晚期,核呈圆锥形,染色质高度浓聚;前顶体内容物进一步浓缩,形成顶体(图版 I:7);在顶体与核之间分布着高电子密度的颗粒状物质,即所谓“亚顶体物质”;一对中心粒彼此垂直,与质膜垂直的远端中心粒进一步延伸成“尾丝”,线粒体有规律排列在它周围,形成很短的中段,残余的细胞质碎片排出。

(2) 精子:精子呈圆锥形,分头部、中段和尾部。头部具有扁圆形的核,核上方稍凹陷,顶体由“亚顶体物质”浓缩物贴附在其上;核下方内凹形成电子密度很低的核沟。精子的中段有两个中心粒,互相垂直,近端中心粒紧接核的后端,横切面观,其呈明显的“ 9×3 ”风车状结构;远端中心粒形成轴丝的基底体,向后延伸成尾丝,尾丝包含有外周的9对微管和中央的两个微管,即“ $9+3$ ”结构,其纵切面,可见包围尾丝的外膜上具有刺状结构(图版 I:8, TF 放大图);线粒体围绕在中心体周围,嵴较长,其电子密度较低。(图版 I:8)

讨 论

文昌鱼精细胞核染色质浓聚后的形态归纳为三类：颗粒状、纤维状和片状（晶状）。我们观察的文昌鱼精细胞核染色质浓缩过程，不同上述各种类型，而类似于鸟类^[1]，即由细颗粒状→粗颗粒状（小团块）→高电子密度的均质物。种属间这些差异的生物学意义，有待今后研究；但是它们的共同点是随着精细胞变态成熟，不管染色质最终变成颗粒状、片状还是均质物，其游离表面积都是尽量减少；这使复制遗传信息的多层次游离的表面减少到最低限度，并且这种缩小也可以增强结构的稳定性，利于受精功能的完成。

引起核形变化和染色质浓聚的因素很多，首先是构成染色质主要成分的核蛋白脱水，其次是外力作用。我们所观察到的高尔基液泡，在核上方融合成体积大的顶体和在核下方线粒体体积明显增大，从而产生挤压力，这可能是核形变化的主要外力；此外，我们观察到的细胞质形变和微管延伸所产生的外力作用，也是不可忽视的。

2. 顶体的形成及其超微结构特点
本文发现由生精细胞发育分化成精细胞，高尔基液泡由分散逐步向核的一极聚集，数量增多，内容物的电子密度增高，其中不少液泡彼此融合，体积明显增大。在精细胞变态成精子过程中，这些高尔基液泡进一步融合，呈倒“U”字形覆盖在核一端，囊腔中电子密度增高，这时顶体也基本形成。由此可见，顶体的形成及其内容物的合成和浓缩，是同高尔基体密切相关的。这进一步证实了汪德耀等关于许多动物雄性生殖细胞顶体由液泡演变成的观点^[2]。此外，在顶体与核之间的细胞质中，我们还观察到一片高电子密度的颗粒状亚顶体物质，它可能起着把顶体牢固地粘着在核上方的作用^[3]。

有趣的是，我们所观察的顶体具有多层膜结构，而意大利拿波利海湾的文昌鱼精子的顶体仅具有双层膜性结构，引起这种差异，可能与不同亚种有关。从系统发育的角度来看，文昌鱼精子顶体没有像高等动物精子顶体发生中包括顶体帽、顶体棒、顶体囊的顶体复合体的复杂结构^[4]，但具有类似高等动物的亚顶体物质^[7]。从顶体的来源方面，文昌鱼具有和脊椎动物一样，由高尔基液泡直接汇集融合后形成完整型顶体^[6]，而不像无脊椎腔肠动物中所见到的仅形成堆积于精细胞核前端的一些起源于高尔基体小囊的那种不完整型的顶体^[5]。因此，文昌鱼顶体的形成，很类似脊椎动物，而与腔肠动物不同。

3. 精子发生过程中，线粒体的演变规律及意义
从精原细胞发育到次级精母细胞，线粒体数量增多，嵴逐渐发达，基质电子密度也增高，集中在高尔基区的线粒体逐渐分散到细胞质各处。随着精细胞的变态，大部分的线粒体逐步融合，数量由多而少，体积由小变大，嵴也愈发达，并从核的上方移向核的下方，最终参与形成精子的中段。由此可见，线粒体不仅分布在生精细胞发育过程中需能的区域，为生理代谢和顶体的形成提供能量，而且也为精子尾部的活动积蓄所需的能源。

线粒体演变规律不仅类似于无脊椎动物（海豆芽^[9]），也与某些脊椎动物（北京鸭^[11]等）相似。因此，文昌鱼精子发生过程的细胞学研究，能说明其“ $U + P$ ”型，属第二个阶段中央型（8r）亚模式，1981年海豆芽精子发生过程的细胞学研究^[10]（厦门大学研究生毕业论文）（图版 37, 8:1 照图）

相似;然而,其内部超微结构却不同于高等动物,而较接近于低等的水中受精的动物(腕足类)。这说明文昌鱼雄性生殖细胞线粒体不仅反映着系统发育过程的相关性和连续性,也保持着个体发育的原始性。

4. 精细胞变态过程中,微管系统的重组及意义

汪德耀等人^[8]认为,微管系统与精子的形态建成有关。本文佐证这种观点。首先,在精细胞变态中期,核周围有弧形微管分布,这与核形的维持有关;到变态晚期,微管伸长,所造成的压力有可能引起核变形。其次,细胞核由圆形变扁梨形,其体积压缩,可能迫使核内物质尤其是水分外流,这与核内核蛋白脱水有一定关系。此外,我们还认为,在精细胞变态过程中,微管可能与输送前顶体物质有关。

我们观察到精子远端中心粒的微管向尾端延伸,在尾丝的外膜上有刺状结构,此结构在其它种属动物身上未见有文献报道,其功能有待研究。

参 考 文 献

- [1] 汪德耀、林美英、黄宗平等, 1981。北京鸭精子发生过程的电镜观察。 厦门大学学报(自然科学版) 1: 91—99。
- [2] 汪德耀, 1957。动物细胞液泡系。厦门大学科学进展 1: 64—68。
- [3] Afzelius, B. A., 1971. The spermatozoon of the nemertine *malacobdella grosso*. *J. Submicrosc. Cytol.* 3: 181—192.
- [4] Baccetti, Anna. G. Burrini and Romano Dallal, 1972. The spermatozoon of *Branchiostoma lanceolatum* L. *J. Morph.* 136: 221—226.
- [5] Baccetti, B., B. A. Afzelius, 1976. The Biology of the Sperm Cell. Series Editor: A. Wolsky, New York, pp. 34—144.
- [6] Fawcett, D. W., 1970. A comparative view of sperm ultrastructure. *Biol. Reprod. Suppl.* 2: 90—127.
- [7] Hopsu, V. K. and A. U. Arstila, 1965. Development of the acrosomic system of the spermatozoon in the Norwegian Lemming (*Lemmus Lemmus*). *Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat.* 65: 562—572.
- [8] Ouang Teyio et al., 1980. Study on microtubules in spermatogenesis of the Domestic Ducks. Second Int. Congress on Cell Biol. Abstracts. *European Journal of Cell Biol.* 22: 305.
- [9] Summers, R. G., 1970. The fine structure of the spermatozoon of *Pennaria Tiarella* (Coelenterata). *J. Morphol.* 131: 117—130.
- [10] Walker, M. H., 1970. In *Comparative Spermatology*. Academic Press. New York, pp. 383—391.
- [11] Yasuzumi, G., 1974. Electron microscope studies on spermiogenesis in various animal species. *Int. Rev. Cytol.* 37: 53—119.

更 正

本刊18卷1期刊登的“浙江沿岸上升流区夏季海水化学要素的‘羽状’中心分布特征”一文中的无机氮、磷酸盐和硅酸盐的浓度单位分别为 $\mu\text{g at. N/L}$, $\mu\text{g at. P/L}$ 和 $\mu\text{g at. Si/L}$ 。

STUDIES ON ULTRASTRUCTURE IN SPERMATOGENESIS OF AMPHIOXUS (*BRANCHIOSTOMA BELCHERI* GRAY)

Lin Jiahan, Chen Xifa and Wang Deyao (Ouang Teyio)

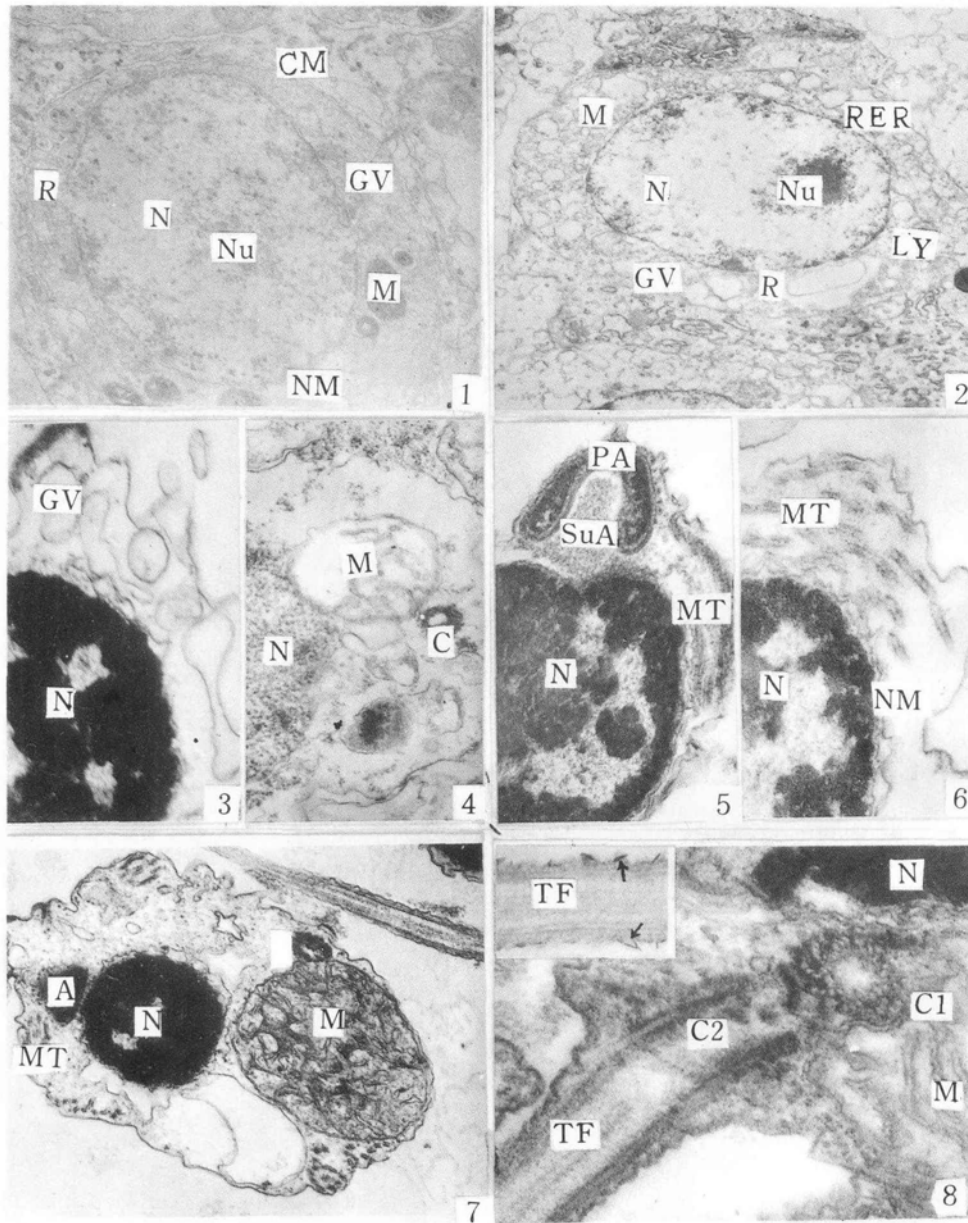
(Xiamen University)

ABSTRACT

The present paper discusses the studies on morphological and structural change of cell in the spermatogenesis process of Xiamen amphioxus (*Branchiostoma belcheri* Gray) by electron microscopy. The characteristics of ultrastructure of various order spermatogenesis cells and sperms are described in detail. The studies indicate that concentration process of chromatin of spermatoblast nuclei differs from that of sea-urchin etc., but is similar to that of birds. This process is shown as follows. fine grain form—small mass form—uniform materials with higher electron density. It follows that free surface of chromatin decreases and its structure stability increases. This favours to accomplish the function of fertilization. The change of nucleus form and the concentration of chromatin are probably due to the action of external forces produced by the formation of the acrosome, the gathering of the mitochondria and the extension of the microtubules.

The acrosome observed in this material possesses the structure of polylayer membranes. It is neither like the complete acrosome complex of some of the higher animals, nor like the incomplete acrosome amassed by vesicle of invertebrate. And it also shows that the formation of the acrosome and the synthesis and concentration of contents are closely related to Golgi complex.

Besides, this paper indicates that the numbers, the distribution position and the ultrastructure of mitochondria, all have a change. The rules of its transformation are similar to invertebrate (such as *Lingula anatina* Bruguiere, etc.) and vertebrate (Perin, etc.). But the inner structure is different from that of higher animal and similar to that of the lower animal fertilized in water (Brachiopoda). This not only shows the relativity and the continuity of system development, but also holds the originality of individual development. At the same time, the roles of microtubules systems in the change and remaining of nucleus form, and transporting preacrosome substances are found. It is of interest to note that the special structure of thorny form on external membrane of tail filament is observed. This structure has never been reported on the sperm of other genus of animal.



1. 文昌鱼B型精原细胞超微结构：N·细胞核；Nu·核仁；NM·核膜；CM·细胞膜；M·线粒体；R·核糖体；GV·高尔基小泡。（ $\times 100000$ ）；2. 文昌鱼初级精母细胞超微结构：RER·粗精型内质网；Ly·溶酶体；GV·高尔基液泡。（ $\times 7360$ ）；3. 精细胞变态早、中期超微结构（高尔基液泡聚集在核一方）。（ $\times 30000$ ）；4. 精细胞变态中期超微结构（中心粒和部分线粒体移向核的另一端）；C·中心粒。（ $\times 33600$ ）；5. 精细胞变态中期超微结构（高尔基液泡形成倒“U”字形前顶体）；PA·前顶体；SuA·亚顶体颗粒；MT·微管。（ $\times 32000$ ）；6. 精细胞变态中期超微结构（核外分布弧形微管）。（ $\times 41600$ ）；7. 精细胞变态晚期超微结构（顶体形成）；A·顶体。（ $\times 19500$ ）；8. 精子超微结构（中段互相垂直两个中心粒，放大图示远端中心粒延伸出尾丝，外膜上具刺状结构）；TF·尾丝；C1·近端中心粒；C2·远端中心粒；↑示刺状结构。（ $\times 38000$ ，TF图， $\times 60000$ ）。