

中国龙虾 *Panulirus stimpsoni* (Holthuis) 的精子发生

广西海洋研究所

韦受庆

提 要

本文报导了光学显微镜、透射电子显微镜和扫描电子显微镜研究中国龙虾 *Panulirus stimpsoni* (Holthuis) 精子发生的结果。

中国龙虾的精子发生经过精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精细胞和精子。成熟分裂前期由细线期、偶线期、粗线期、双线期和终变期组成。精细胞的变态经过早期精细胞、顶体颗粒期、顶体囊期、顶体分化期和成熟精子。精子属非典型精子，没有鞭毛，不能运动。在扫描电镜中，成熟精子呈绒毛球状。在透射电镜片中，每个精子有核、板层区和顶体。核内有分散的染色质和微管。突起从核发出，核中的微管也伸进突起，顶体和板层区也见到突起。板层区包含有大量的膜和少量退化的线粒体。由高尔基复合体产生的顶体可以分成均质部、旋涡部、晶体部和绒毛部。

前 言

精子发生学是胚胎学的重要组成部分。精子发生过程是个体发生的第一步，精子发育正常与否直接地影响到动物的一生，同时也影响到种群的发展。研究精子发生，不仅丰富了胚胎学，同时对动物的资源保护和人工增殖都有重要的实践意义。

关于龙虾精子发生的研究，国内尚未有报导，国外的资料也不多。Talbot等^[7]研究了龙虾 *Panulirus* 成熟精子的超微结构，特别注意到顶体部分。Moses^[4, 5, 6]研究了龙虾 *procambarus clarkii* 精子发生过程。在甲壳类精子发生方面，Yasuzumi^[8] 和 Langereth^[3] 研究了蟹精子发生。Brown^[1, 2] 研究了几种十足类的精子发生。

为了弄清龙虾的精子发生，以便指导龙虾的引进和人工养殖，作者在高琼珍副教授的指导下，自 1981 年起研究了中国龙虾的精子发生。

材 料 和 方 法

中国龙虾取材于湛江市硇洲岛。

光学显微镜制片法 迅速剖取精巢，用包氏液固定后，用 50% 乙醇冲洗数次，70% 乙醇保

存备用。在制片时，通过脱水、透明、包埋、切成4微米厚，HE染色、封片。

透射电子显微镜制片法 剖取精巢，切成0.5—1立方毫米，4%戊二醛作前固定，脱水到70%乙醇后，以5%的醋酸铀块染3—4小时，脱水，用环氧树脂包埋剂包埋，超薄切片，用醋酸铀—柠檬酸铝双重染色，镜检，拍片分析。

精液扫描电子显微镜制片法 吸取精液置于铜片上，用2.5%戊二醛固定，乙醇脱水，空气干燥，喷金属涂片，镜检，拍片分析。

结 果

中国龙虾的精巢为一对棒状体，两端小，中部大，后端接输精管，输精管以生殖孔开口于第五胸足基节的交配器（图1）。精巢的大小和雄虾的身体成正比；同时又随着繁殖活动而发生周期性的变化。在繁殖活动期，即每年2月至8月，雄虾精巢大而软，里面充满着成熟精子。在繁殖休闲期，即每年9月至翌年1月，精巢小而硬，成熟精子极少。在每年繁殖季节中，体大的雄虾性腺先成熟，但萎缩也较早。体小的雄虾性腺发育较迟，萎缩也较晚。2月底，头胸甲长60毫米的雄虾性腺未发育；而8月初，头胸甲长90毫米的雄虾性腺已萎缩。

在横切面中可见精巢里面由胶原纤维索，网状结缔组织和曲细精管组成（图2）。曲细精管由基膜细胞围成，基膜细胞长梭形，核大而细胞质少（图3）。支柱细胞附着于基膜上，它的游离端有许多突起，发育中的生殖细胞镶嵌在这些突起上。

精子发生经过精原细胞，初级精母细胞，次级精母细胞、精细胞和精子（图4）。精原细胞靠近基膜，核常分叶，核仁位于核中央，染色很深。一部分精原细胞长大成为初级精母

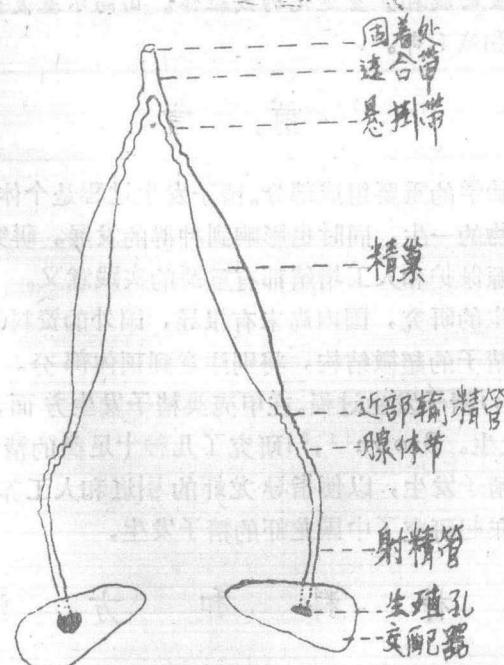
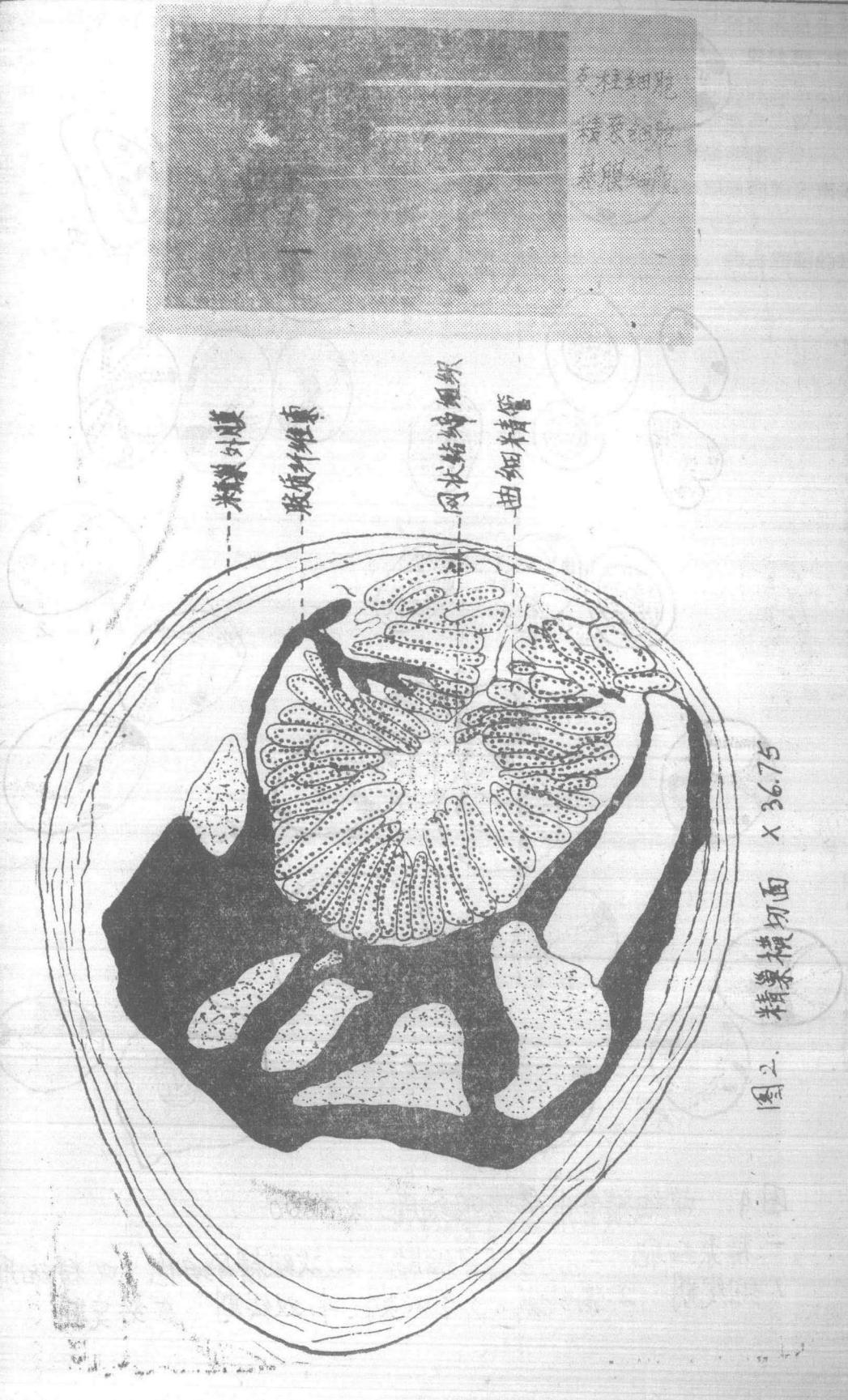


图1. 雄性生殖器官 X1



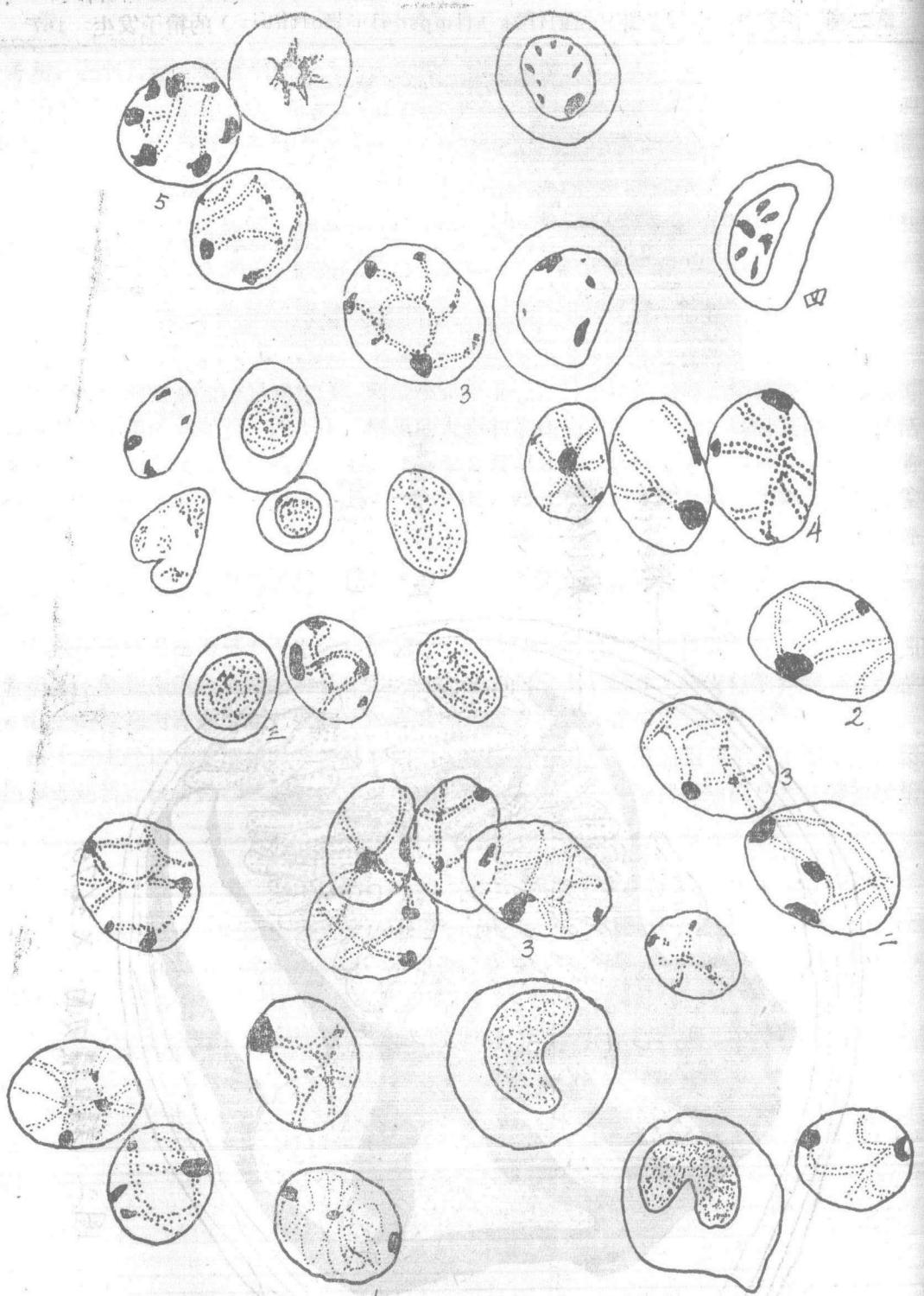


图4. 曲细精管中的生殖细胞 $\times 3200$

一. 精原细胞 二. 初级精母细胞 三. 次级精母细胞 四. 精细胞
1. 细线期 2. 隔线期 3. 粗线期 4. 双线期 5. 终变期

细胞，一部分保持原状，继续进行有丝分裂，增加数量。初级精母细胞经过两次成熟分裂，产生精细胞，图5是分裂中的精母细胞。第一次成熟分裂的前期经过细线期、偶线期、粗线期、双线期和终变期。在细线期中，染色质浓缩成细丝状的染色体。偶线期的同源染色体排在一起。粗线期的染色体变粗变短，同源染色体扭在一起，交叉点成为一个黑点。双线期的染色体明显呈双线状。到终变期，染色体成短杆状，短杆间以模糊的染色丝连接。

精细胞经过变态成为精子。中国龙虾的精细胞变态过程初步可分为早期精细胞，顶体颗粒期，顶体囊期，顶体分化期和成熟精子。

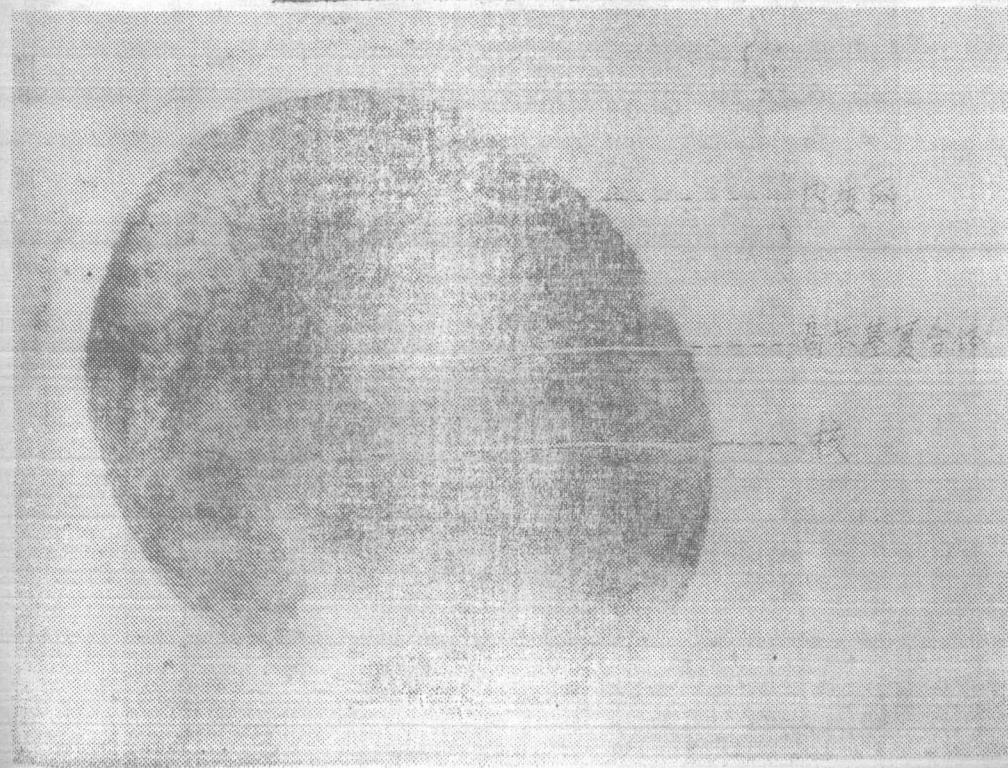
早期精细胞(图6)细胞为卵圆形；细胞核偏于一侧，形状不规则，约占细胞的1/4

图5

分裂中的精母细胞 $\times 20000$ 

图6

早期精细胞



高尔基复合体位于核的一侧，由5—6层扁平的囊群组成，向外的一面形成较大的浓缩泡；内质网常成群存在。核的周围布满正在退化的线粒体。

顶体颗粒(图7)细胞为卵圆形;核偏于细胞一端,约占细胞的 $1/40$ 核的形状不规则。

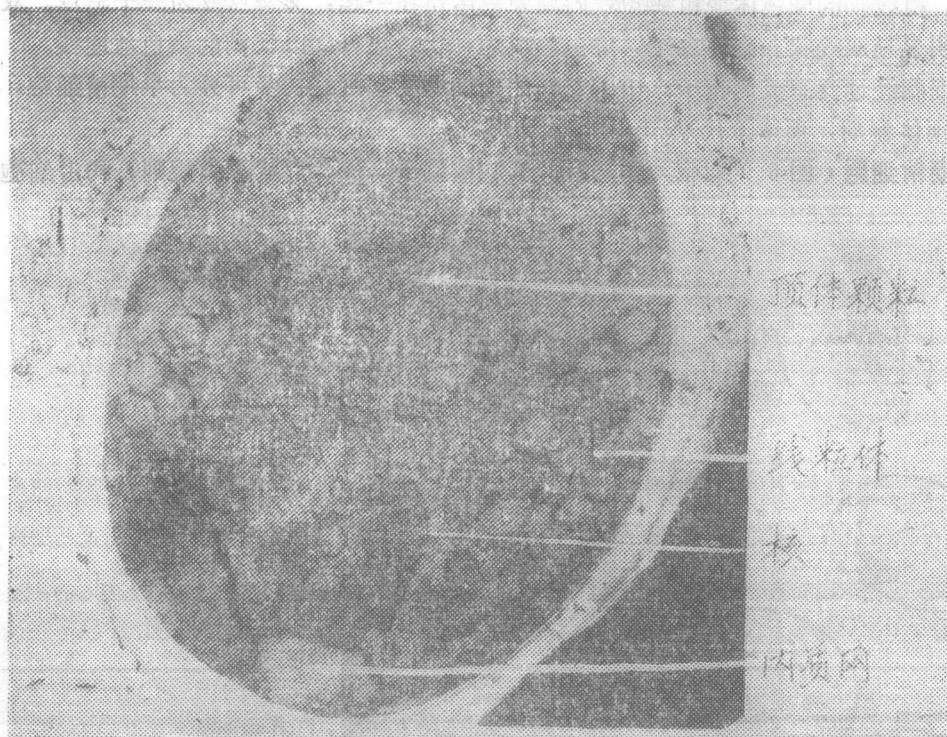


图 7 顶体颗粒期 $\times 2500$

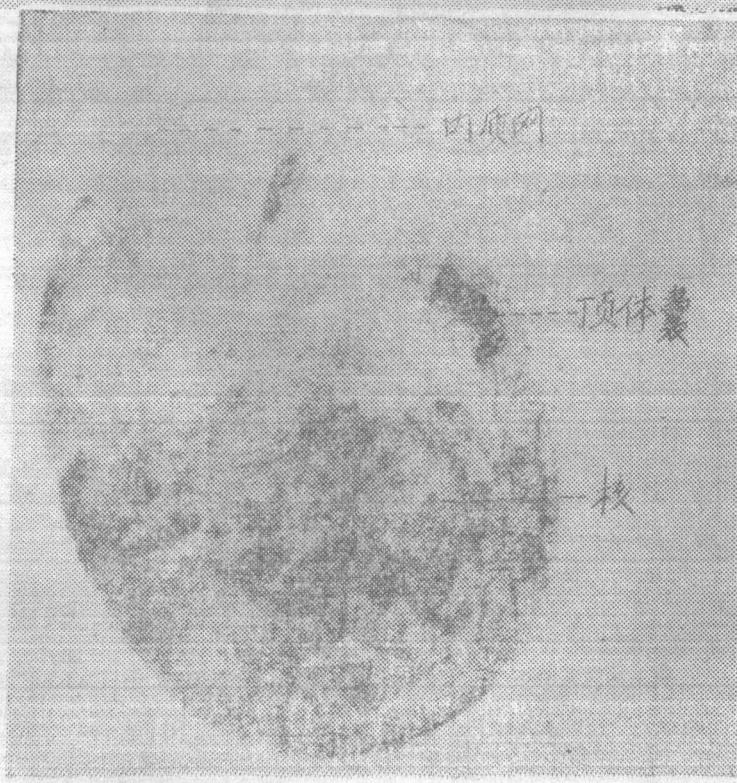


图 8 顶体囊期 $\times 34000$

则,向内的一面形成一个凹窝。核内有分布不均匀的囊泡,囊泡形状不大规则。囊泡间散布着小颗粒。高尔基复合体位于核的凹窝处,形态结构正发生变化,由扁平囊群变成颗粒状,这种变化是由外向内逐渐进行。远离核的囊片,已基本变成颗粒状,近核的地方还保留有少量的扁平囊片。颗粒大小不等,形态不一。内质网在核的外端集中成堆。正退化的线粒体位于核的周围。

顶体囊期(图8)细胞仍为卵圆形,核约占细胞的1/4,核内染色质成星云状分布,周密而中央稀;变成颗粒状的高尔基复合体集中成一个顶体囊,外面有一些囊片所包围。

顶体分化期(图9)细胞变成不规则的椭圆形,核为双凹形,开始向外伸出突起,核内染

图9

顶体分化期 $\times 24000$

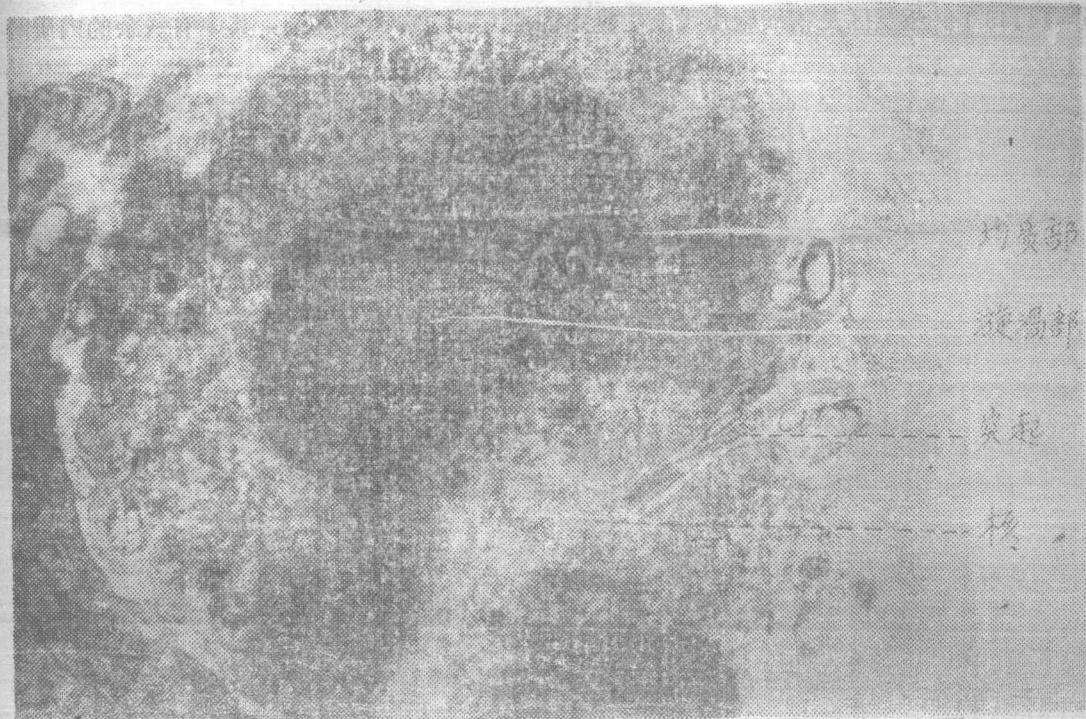


图10

成熟精子的扫描电镜图 $\times 4000$



色质变稀。核膜已和质膜接连，质膜又和支柱细胞膜接触，在一些区段很难分清精细胞膜和支柱细胞膜。顶体位于核的一面，已开始分化出均质部和旋涡部。细胞质间有许多染色很深的颗粒。细胞质中的膜片已开始集中，形成板层区的原基。

成熟精子 中国龙虾的成熟精子为非典型精子，没有鞭毛，不能运动；外表呈绒毛球状(图10)，里面由核、板层区和顶体组成(图11)。核位于中央，占据精子的绝大部分。核向外伸出若干突起(图12)，在板层区(13)和顶体(图14)也见有突起。核由染色质和微管组成，染色质呈星云状分布；微管也从核伸到突起(图15)。图12的突起中的微管直径为 278.5A 。 $(S=14.43)$ 。板层区是精细胞质残余物集中的地方，结构相当复杂，其中有残余的内质网

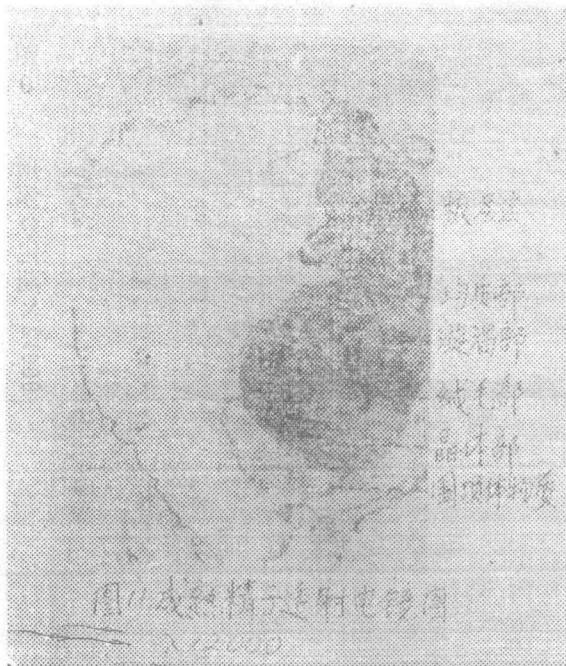


图10 成熟精子透射电镜图

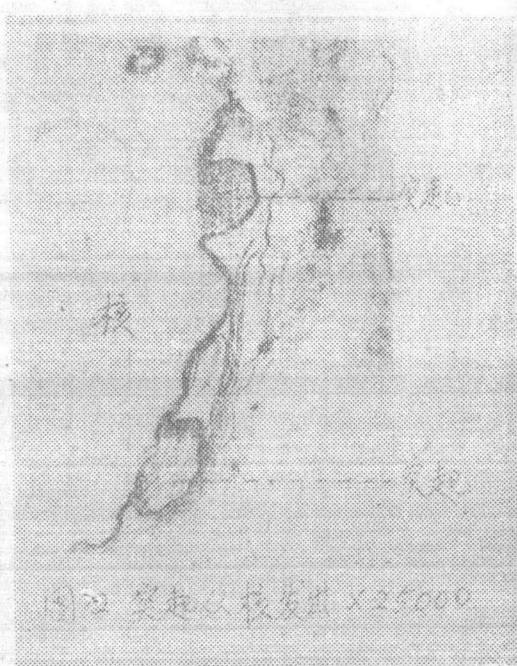


图12 突起
核放大 $\times 25000$

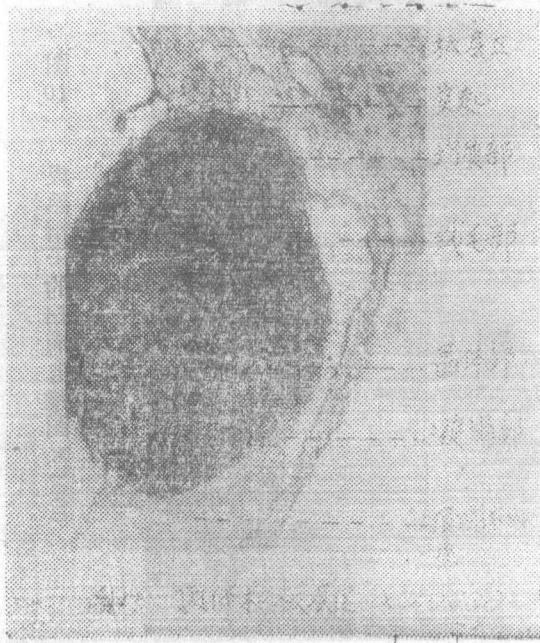


图14 顶体
放大 $\times 30000$

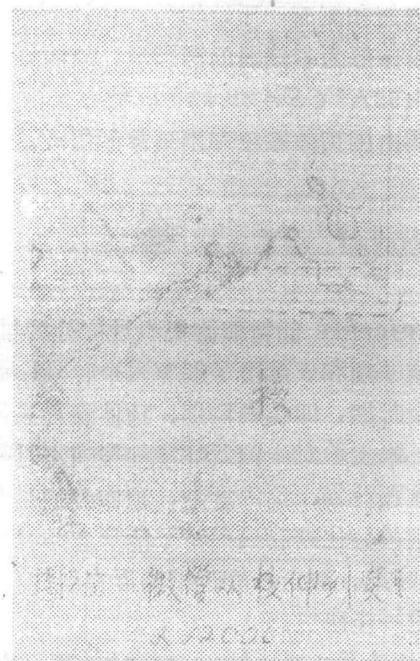


图3. 顶峰高密度精子发生



图4. 顶峰高密度精子发生

和退化了的线粒体。顶体为双凸透镜状(图11、13)，可分成均质部、旋涡部、晶体部和绒毛部。均质部如帽状罩住顶体的内面和侧面，质地均匀。旋涡部质地不均匀，中央稀而周围浓，其中有一堆一堆的旋卷体。晶体部为不规则的椭圆形，里面结构非常整齐，颇似筛子(图16)，晶体颗粒的直径为 257.58A° ($S=21.43$)。绒毛部由分散的绒毛状物组成。顶体外面有围顶体物质。围顶体物质由围顶体颗粒和围顶体丝组成。

讨 论

Moses^[8]把*Procambarus clarkii*的精细胞变态过程分为早期精细胞、顶体颗粒期、顶体帽期、双凹核期、未成熟精子期和成熟精子期等六个时期Langereth^[3]把Cancer属的蟹的精细胞变态过程也分为六个时期，即核颗粒期、顶体囊形成期、顶体帽期、核心形成期、未成熟精子期和成熟精子期。本实验对中国龙虾精细胞变态过程的初步研究，发现5个时期、分别称为早期精细胞、顶体颗粒期、顶体囊期、顶体分化期和成熟精子。在这5个时期中，顶体囊期和顶体分化期，顶体分化期和成熟精子的形态结构相差很大。和上述二人的分期对照，推测它们之间应有过渡时期。至于过渡时期的形态结构如何，中国龙虾的精细胞变态过程应分为几个时期，有待于进一步研究。

在顶体形成方面，Moses^[8]认为*Procambarus clarkii*精子的顶体是由粗面内质网产生。Langereth^[3]认为Cancer属蟹精子的顶体也是由粗面内质网产生。Yasuzumi^[8]认为Eriocheir japonicus的头是由纤维成分包裹碳水化合物衍变成。而在中国龙虾的精细胞变态过程中，顶体很可能是由高尔基复合体产生。在图6、7、8中，可以看到高尔基复合体变为顶体的过程。在图6中，高尔基复合体成扁平囊状；到图7，高尔基复合体解体变成颗粒状；图8的高尔基复合体已变成顶体囊，外围还有一些囊片所包围。这样的顶体形成方式和普通具鞭毛的精子的顶体形成方式是相同的^[6]。

中国龙虾精子的超微结构和Talbot等^[7]所研究的*Panulirus argus*和*Panulirus guttatus*精子的超微结构大致相同。出入较大的是突起发出的位置。Talbot讲，突起没有从顶体发出。但在中国龙虾的精子中，图14的顶体晶体部和顶体绒毛部间有被横切了的突起出现，可能是核的突起穿过顶体向外发出。不仅在顶体发现核的突起，在板层区也有核的突起。

参 考 书

- [1] Brown, A., Talbot, P., Summers, R. G., and W. H. Clark, 1977. Comparative analysis of Decapod sperm. *J. Cell Biol.*, 75: 170a.
- [2] Brown, G. G., 1966. Ultrastructural studies of sperm morphology and sperm-egg interaction in the Decapod *Callinectes sapidus*. *J. Ultrastruct. Res.*, 14: 425-432.
- [3] Langereth, S. G., 1969. Spermiogenesis in cancer crabs. *J. Cell Biol.*, 43: 575-603.
- [4] Moses, M. J., 1960. A light and electron microscopes study of spermiogenesis in Decapod *Crustacea*. *Anat. Res.*, 136: 342.

- [5] Moses, M. J., 1961. Spermiogenesis in the crayfish (*Procambarus clarkii*) I. Structural characterization of the mature sperm. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 9: 222-228.
- [6] Moses, M. J., 1961. Spermatogenesis in the crayfish (*Procambarus clarkii*). *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 10(2): 301-333.
- [7] Talbot, P., and R. G. Summers, 1978. The structure of sperm from *Panulirus*, the spiny lobster, with special regard to the acrosome. *J. Ultrastruct. Res.*, 64: 341-351.
- [8] Yasuzumi, G., 1960. Spermatogenesis in animals as revealed by electron microscopy, VII. Spermatid differentiation in the crab, *Eriocheir japonicus*. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 7: 73-78.

本实验得到中山大学高琼珍副教授指导, 中山大学电镜室和中山医学院电镜室协助制片、开机和拍片, 作者对上述导师和协助单位的全体同志表示衷心感谢