

文章编号: 1674 - 5566(2011)01 - 0071 - 05

七带石斑鱼精子的超微结构

廖光勇^{1,2}, 区又君¹, 李加儿¹, 陈超³, 庄志猛³

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 广东广州 510300; 2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306; 3. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东青岛 266071)

摘要: 利用透射电子显微镜技术研究了七带石斑鱼 (*Epinephelus septemfasciatus*) 精子的超微结构, 结果发现: 七带石斑鱼精子由头部和尾部(鞭毛)两部分组成, 没有明显的中片, 头部前段无顶体, 主要有高电子密度的球形细胞核, 核中主要是致密的染色质, 还分布有一些核泡, 核外由核膜包围, 将核与细胞质分隔开, 核膜最前端紧贴质膜, 核后端有植入窝, 近端中心粒和中心粒间体位于其中。头部后端为袖套结构, 由质膜包围的袖套结构延伸到后部, 使整个头部呈椭球形, 质膜后端沿鞭毛形成一个袖套腔, 袖套结构中分布有中心粒复合体、线粒体以及囊泡等。精子细胞的细胞膜不光滑, 呈现小的皱折。七带石斑鱼精子的尾部细长, 紧接于头部细胞核, 穿过袖套腔, 通过基体与核紧密结合, 中心粒复合体也位于此, 且近端中心粒和远端中心粒呈钝角, 鞭毛的轴丝由此形成, 基体与鞭毛间的过渡区轴丝无中央微管, 呈“9+0”型。尾部的主要结构为轴丝, 其轴丝为典型的“9+2”结构, 其起始端开始于前端基体, 轴丝外仅有少许细胞质。

研究亮点: 七带石斑鱼是冷水性名贵海水经济鱼类, 是发展北方养殖业的理想品种, 对其种质资源的研究具有重要的意义; 本文探明了七带石斑鱼精子的超微结构, 发现精子没有中片, 只有头部和尾部两部分; 基体与鞭毛间存在过渡区, 过渡区轴丝没有中央微管, 为“9+0”型。

关键词: 七带石斑鱼; 精子; 超微结构

中图分类号: S 917

文献标识码: A

七带石斑鱼 (*Epinephelus septemfasciatus*) 属鲈形目、鲷科、石斑鱼亚科、石斑鱼属, 又称七带斑、冷水石斑、过鱼, 分布于黄、渤海和东海, 为黄海唯一分布的石斑鱼类。七带石斑鱼是重要的冷水性鱼类, 研究其繁养殖生物学对于开发合适的北方网箱养殖鱼类新品种、发展我国北方海水网箱养鱼业具有重要的意义。目前, 对于七带石斑鱼的研究尚处于起步阶段, 在人工繁育研究方面, 国内谢管等^[1]2009年报道了七带石斑鱼的早期发育; 日本、韩国和中国台湾从20世纪90年代开始养殖七带石斑鱼, 其研究报道包括卵和仔、稚、幼鱼的培育^[2]、性腺发育^[3]、神经坏死症病毒^[4-6]、促性腺激素 cDNA 分子克隆^[7]等。

鱼类精子的活力和质量是人工繁殖的基本保证, 关系到苗种生产的成败, 研究精子的超微结构对于获得高质量雄性配子、确保人工繁殖研究成功具有重要意义。关于硬骨鱼类精子的超微结构已有较多研究, 其中包括黄颡鱼 (*Pseudobagrus fulvidraco*)^[8]、大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*)^[9]、江黄颡鱼 (*Pelteobagrus vachelli*)^[10]、平鲷 (*Rhabdosargus sarda*)^[11]等, 而对七带石斑鱼精子的研究在国内外未见报道。本文研究了七带石斑鱼精子的超微结构, 以期为该鱼的繁殖生物学、人工繁殖研究和硬骨鱼类的分类提供有价值的参考资料。

收稿日期: 2010-04-09 修回日期: 2010-07-05

基金项目: 国家“八六三”高技术研究发展计划项目(2006AA10A414)

作者简介: 廖光勇(1985-), 男, 硕士研究生; 专业方向为水产动物繁殖生物学。E-mail: guangyong1797@163.com

通讯作者: 区又君, E-mail: ouyoujun@126.com

1 材料与方法

1.1 材料

七带石斑鱼精子于2009年7月取自人工驯养的健康亲鱼,亲鱼体重3 kg以上,体长35 cm以上。人工催产后取精液,并用三倍预冷的2.5%戊二醛(pH 7.4)固定,4℃保存,以备进行电镜制样、观察。

1.2 方法

2.5%戊二醛固定后的精液经3 500 r/min离心3 min,弃上清液,加3倍2.5%戊二醛,20 min后弃上清液,用PBS液清洗3次后,用1%锇酸固定1 h,PBS清洗3次,各级梯度酒精脱水,Epon 812树脂包埋,Leica UCT超薄切片机切片,经醋酸铀及柠檬酸铅双重染色后,用FEI-Tecnaï 12分析型透射电子显微镜观察并拍照。

2 结果

七带石斑鱼的精子由头部和尾部(鞭毛)2部分组成,没有明显的中段(图版-1,2,3,4)。头部的主要结构有细胞核、线粒体、中心粒复合体和袖套(sleeve)。尾部细长,细胞质少。

2.1 精子头部的结构

七带石斑鱼精子头部呈椭球形,由质膜包被,无顶体(图版-1,2,3)。头部前部主要是细胞核,后部为袖套。细胞核为球形,里面分布有电子密度高的染色质以及一些核泡。整个细胞核由核膜包被,将细胞核与细胞质分开。头部最前端核膜与质膜间空间小,近于紧贴。(图版-1,2,3,4)

细胞核后端有植入窝,植入窝从细胞核后端往前端凹陷,呈井状(图版-2,3)。近端中心粒和中心粒间体位于植入窝,近端中心粒一端斜陷入植入窝中,一端伸出植入窝,近端中心粒与基体呈钝角排列,基体在植入窝外部(图版-3,4,5)。近端中心粒为“9+0”型,由九组微管三联体形成一个圆形,无中央微管(图版-5)。

袖套位于细胞核的后端,呈圆筒状,其中间的腔称为袖套腔,袖套腔仅为一条狭窄的环形空腔。基体位于袖套的近核区,其长轴与精子的长轴平行。基体与从袖套腔伸入的尾部连续,与近端中心粒一样没有中央微管,外周由9组微管三联体组成,亦属于“9+0”型,基体与鞭毛间有一

过渡区域,过渡区的远核端外周微管为微管二联体,但无中央微管(图版-1,2,3,4,5)。在过渡区的微管三联体与微管二联体间有一个明显横隔,此横隔为鞭毛与基体连接结构(图版-5)。袖套内分布有线粒体和囊泡(图版-1,4,7)。袖套的质膜根据其位置不同分为袖套内膜和袖套外膜,袖套内、外膜连续,位于袖套腔一侧的为袖套内膜,另一侧的为袖套外膜(图版-1,3,4)。袖套内膜与鞭毛的质膜相连续。

2.2 尾部

七带石斑鱼精子的尾部为一条细长的鞭毛(图版-8)。尾部的起始端位于袖套腔中,与基体相接。尾部结构基本一致,轴丝是尾部的主要结构,其起始端紧接基体与尾部的过渡区,有很小一段无中间微管(图版-1,2,3,4)。过渡区后轴丝为典型的“9+2”结构,由9组外周微管二联体和2组中央微管(亦称中央微管对)组成,外周微管二联体又由完全微管A小管和不完全微管B小管组成(图版-7,9)。轴丝与鞭毛的质膜间空隙狭窄,细胞质较少,偶见囊泡结构(图版-1)。尾部的远核端轴丝的微管逐渐终止,直至解体。在尾部起始端鞭毛质膜纵切面整齐,呈直线;其后延伸至末端,质膜切面呈曲线,鞭毛起始端有一小段无侧鳍,其后有波纹状侧鳍(图版-1,4,8)。

3 讨论

硬骨鱼类精子多分为头部、中段(亦称中片)和尾部3部分,但有些鱼类的精子头部无顶体,亦无明显中片结构,七带石斑鱼精子就属于此类型。按硬骨鱼类精子结构的常规方法划分,七带石斑鱼精子头部只有细胞核和部分质膜,作为中段结构中的近端中心粒和中心粒间体却大部分陷入核中,故头部和中段作为一个整体部分更为合适,因此,作者采用尤永隆和林丹军^[9]的划分方法,将七带石斑鱼精子分为头部和尾部两部分,并将内有中心粒复合体、线粒体和囊泡等结构的袖套归入头部,整个头部呈椭球形;尾部主要为细长的鞭毛。大黄鱼精子头部有背腹之分,核位于腹侧,中心粒复合体位于背侧^[9];本研究观察七带石斑鱼精子头部无背腹两侧之分。

3.1 细胞核

七带石斑鱼精子的细胞核位于头部前端中

央,核膜与浓缩的染色质间一些部位存在一定空隙,多靠近头部最前端。此并非真空隙,而是核基质由于染色质浓缩而聚集,导致核基质染色极浅的结果。头部最前端核膜与质膜近乎紧贴,后端质膜与核膜间有较大空间。核前无顶体,核后端有植入窝,植入窝中分布有近端中心粒和中心粒间体。这些结构与斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)^[12]、赤点石斑鱼(*E. akaara*)^[13]等鱼类精子的结构基本相似。七带石斑鱼精子核内染色质间有一些空隙,称为核泡,一些学者^[12,14]认为该结构因无膜结构的存在,因此并非核泡;本研究也未观察到膜的存在,支持上述观点,但长期以来学者们都将此结构称为核泡,因此本文也沿用此概念。

3.2 中心粒复合体

七带石斑鱼精子中心粒复合体由近端中心粒、中心粒间体和基体3部分组成。硬骨鱼类精子都有中心粒复合体结构,其分布和排列各有差异。大黄鱼精子中心粒复合体的近端中心粒与基体相互垂直,且都位于植入窝中^[9],鲤(*Cyprinus carpio*)精子的近端中心粒和基体呈“L”字形排列^[14],黄颡鱼精子的近端中心粒与基体首尾相对,排在同一条直线上^[8],斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)精子的中心粒复合体由两个基体组成^[15],平鲷精子近端中心粒与远端中心粒呈“T”字形^[11],斜带石斑鱼精子的近端中心粒与基体呈120°夹角^[12],七带石斑鱼精子的近端中心粒与基体呈钝角排列,与斜带石斑鱼的精子类似。近端中心粒与基体间为中心粒间体;基体与尾部存在过渡区域,也是尾部与头部的连接部位。

3.3 袖套结构

袖套结构是硬骨鱼类精子大多存在的结构,为精子内部能量物质等的储藏仓库,主要为精子的运动等生命活动提供能量。袖套里面主要有线粒体、囊泡和细胞质基质等。但西伯利亚鲟(*Acipenser baerii*)精子有明显的中段,未见袖套结构报道^[16]。具有袖套结构的不同硬骨鱼类其袖套的形态也各有差异,斜带石斑鱼精子的袖套不对称^[12],大黄鱼精子分为背腹两侧,袖套结构主要分布在背侧,在腹侧部分袖套与细胞核后端紧密相连^[9],而七带石斑鱼精子的袖套结构基本对称,袖套结构体积约占头部的2/3。有的鱼类精

子袖套膜有3层,除袖套外膜、袖套内膜外,在贴近袖套内膜处还有一层较薄的生物膜,与袖套内膜平行^[8-9,14],而七带石斑鱼精子袖套中未观察到这层膜。在袖套中间存在一个由袖套内膜围成的袖套腔,袖套腔内有尾部起始端,平鲷的袖套腔最为狭窄,袖套内膜几乎紧贴尾部^[11];七带石斑鱼精子袖套腔虽袖套内膜与尾部有明显空隙,但也极为狭窄,袖套后端横切面能明显看到尾部质膜与袖套内膜为两个同心圆。

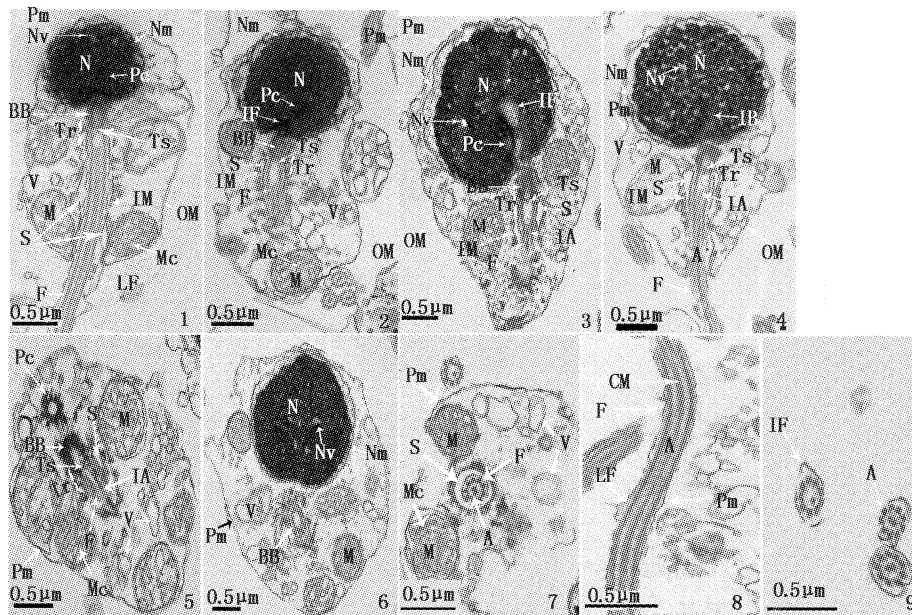
3.4 尾部

七带石斑鱼精子属于有鞭毛型精子,通过鞭毛摆动驱动精子的运动。尾部主要结构为轴丝,由基体延伸而成。轴丝的起始端较为特殊,无中央微管对结构,这种结构在其它鱼类中也有报道,如大黄鱼^[9]和红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)^[17],而多数硬骨鱼类精子尾部轴丝起始端有中央微管,如鲤^[14]、斜带石斑鱼^[12]、长吻鲷(*Leiocassis longirostris*)^[18]等。七带石斑鱼精子鞭毛中偶见有囊泡,但数量极少,在黄颡鱼^[8]和斜带石斑鱼^[12]精子尾部也有类似结构。鞭毛有很小的波纹状侧鳍,从轴丝起始端开始出现,这与黄颡鱼有所不同,黄颡鱼精子的尾部在袖套内部的部分无侧鳍^[8]。由于侧鳍为波纹状,且极小,所以不易观察。在尾部的末端未观察到类似大黄鱼精子尾部的篓状结构(basket-like structure)。

参考文献:

- [1] 谢青,区又君,李加儿,等.七带石斑鱼胚体和卵黄囊期仔鱼的发育[J].海洋通报,2009,28(2):41-49.
- [2] KITAJIMA C, TAKAYA M, TSUKAHIMA Y, et al. Development of eggs, larvae and juveniles of the grouper, *Epinephelus septemfasciatus*, reared in the laboratory[J]. Japanese J of Ichthyology, 1991,38(1):47-55.
- [3] NILAR S, HISASHI C, TOSHIHISA A, et al. Ovarian development and final oocyte maturation in cultured sevenband grouper *Epinephelus septemfasciatus*[J]. Fisheries Science, 2004,70(3):360-365.
- [4] TANAKA S, KURIYAMA I, NAKAI T, et al. Susceptibility of cultured juveniles of several marine fish to the sevenband grouper nervous necrosis virus[J]. Journal of Fish Diseases, 2003,26(2):109-115.
- [5] TANAKA S, TAJAGU M, MIYAZAKI T. Histopathological studies on viral nervous necrosis of sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus* Thunberg, at the grow-out stage[J]. Journal of Fish Diseases, 2004, 27(7):385-399.
- [6] IWAMOTO T, OKINAKA Y, MISE K, et al. Identification of

- Host-Specificity Determinants in Betanodaviruses by Using Reassortants between Striped Jack Nervous Necrosis Virus and Sevenband Grouper Nervous Necrosis Virus[J]. *Journal of Virology*, 2004, 78(3):1256-1262.
- [7] NILAR S, TAKUSHIMA M, NAGAE M, *et al.* Molecular cloning of gonadotropin cDNA in sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus* [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2003, 28(1):107-108.
- [8] 尤永隆, 林丹军. 黄颡鱼 (*Pseudobagrus fulvidraco*) 精子的超微结构[J]. *实验生物学报*, 1996, 29(3):235-245.
- [9] 尤永隆, 林丹军. 大黄鱼精子的超微结构[J]. *动物学报*, 1997, 43(2):119-126.
- [10] 刘利平, 王武, 赵雷蕾, 等. 江黄颡鱼精子的超微结构[J]. *上海水产大学学报*, 2004, 13(3):198-202.
- [11] 刘雪珠, 杨万喜. 平鲷精子的超微结构[J]. *东海海洋*, 2004, 22(1):43-48.
- [12] 赵会宏, 刘晓春, 林浩然, 等. 斜带石斑鱼精子超微结构及盐度、温度、pH对精子活力及寿命的影响[J]. *中国水产科学*, 2003, 10(4):286-292.
- [13] 舒璇, 刘晓春, 张勇, 等. 赤点石斑鱼精子发生和形成的超微结构研究[J]. *中山大学学报: 自然科学版*, 2005, 44(4):103-106.
- [14] 尤永隆, 林丹军. 鲤鱼精子超微结构的研究[J]. *动物学研究*, 1996, 17(4):377-383.
- [15] POIRIER G R, NICHOLSON N. Fine structure of the testicular spermatozoa from the channel catfish, *Ictalurus punctatus* [J]. *Journal of Ultrastructure Research*, 1980, 80(1):104-110.
- [16] 章龙珍, 刘鹏, 庄平, 等. 超低温冷冻对西伯利亚鲟精子形态结构损伤的观察[J]. *水产学报*, 2008, 32(4):558-565.
- [17] 张筱兰, 姜明, 姚斐, 等. 红鳍东方鲀精子形态的研究[J]. *青岛海洋大学学报*, 1999, 29(2):255-259.
- [18] 魏刚, 戴大临, 陈怀辉, 等. 长吻鲩精子超微结构的观察[J]. *四川动物*, 1995, 14(2):56-57.



图版 七带石斑鱼精子超显微结构

Plate Ultrastructure of spermatozoa in *Epinephelus septemfasciatus*

1. 七带石斑鱼精子头部和尾部主段的纵切面, 该切面经过精子中央, 示头部和袖套结构, 4800 \times ; 2. 精子头部纵切面, 该切面略斜, 示尾部轴丝起始端, 袖套及细胞核, 4800 \times ; 3. 精子头部纵切面, 示精子植入窝, 4800 \times ; 4. 精子头部及尾部主段的纵切面. 示头部及中心粒间体, 4800 \times ; 5. 精子袖套横切面, 示袖套和近端中心粒与基体间位置, 6800 \times ; 6. 精子头部的横切面, 4800 \times ; 7. 精子袖套横切面, 4800 \times ; 8. 精子尾部主段纵切面, 6800 \times ; 9. 尾部的横切面, 4800 \times . A. 轴丝; BB. 基体; CM. 中央微管; F. 鞭毛; IA. 轴丝的起端; IB. 中心粒间体; IF. 植入窝; IM. 袖套内膜; LF. 鞭毛上的侧鳍; M. 线粒体; Mc. 线粒体嵴; N. 细胞核; Nm. 核膜; Nv. 核泡; OM. 袖套外膜; Pc. 近端中心粒; Pm. 质膜; S. 袖套腔; Tr. 微管三联体与微管二联体间的横隔; Ts. 基体与鞭毛的过渡区; V. 囊泡。

Ultrastructure of spermatozoa in *Epinephelus septemfasciatus*

LIAO Guang-yong^{1,2}, OU You-jun¹, LI Jia-er¹, CHEN Chao³, ZHUANG Zhi-meng³

(1. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China; 2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract: Ultrastructure of spermatozoa of *E. septemfasciatus* was investigated using transmission electron microscopes. The spermatozoa consists of two parts: the head and the tail (flagellum), no mid-piece. The spermatozoa of *E. septemfasciatus* has no acrosome. A large spherical nucleus, covered with nuclear membrane, is located at the front part of the head and about its 1/3. The high electron density chromatin is the main components of nucleus, with several low electron density vesicles in it. There is little space between the plasma membrane and nuclear membrane at the front part of head. The implantation fossa is located in the posterior end of the nucleus. Proximal centriole and intercentriolar body are located in implantation fossa. The posterior end of the head is a large sleeve, which is about 2/3 of the head. The sleeve contains centriolar complex, several mitochondria and vesicles. At the mid-part of the sleeve, there is a sleeve carve, out of which the thin and long tail stretches. The tail with only a little cytoplasm is thin and long. The axoneme between the end of the base body and the head of the tail is "9 + 0". The 9 doublet of the axoneme, the central structure of the tail, is connected to the 9 strips of the posterior end of the basal body. The flagellar tail is the conventional "9 + 2" axoneme.

Key words: sevenband grouper *Epinephelus septemfasciatus*; spermatozoa; ultrastructure