

文章编号: 1674-5566(2011)06-0820-06

## 白斑红点鲑精子形态和超微结构的研究

张永泉<sup>1</sup>, 尹家胜<sup>1</sup>, 刘奕<sup>2</sup>, 谷伟<sup>1</sup>, 许革峰<sup>1</sup>, 白庆利<sup>1</sup>

(1. 中国水产科学研究院 黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070; 2. 东北农业大学 动物科学技术学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘要:**应用扫描和透射电镜观察了白斑红点鲑 (*Salvelinus leucomaenis*) 精子的形态和超微结构。白斑红点鲑精子由头部、中段和尾部组成。头部呈椭圆形, 主要结构是细胞核, 核前端无顶体, 后端有植入窝, 植入窝较深, 凹入细胞核的 1/3, 核中染色质致密, 存在着不规则的网络状间隙; 中段包括中心粒复合体和袖套, 中心粒复合体主要由近端中心粒和远端中心粒组成, 近端中心粒为典型的 9 组三联微管结构, 与远端中心粒相互垂直, 远端中心粒向下延伸形成轴丝。袖套与细胞核后端相连, 含有丰富的线粒体和囊泡, 部分线粒体彼此融合, 形成复合线粒体, 囊泡有两种; 白斑红点鲑精子尾部细长, 主要结构是轴丝, 为典型的“9+2”微管结构, 轴丝被许多囊泡包围, 质膜向外突出形成上下对称, 但大小不同的两个侧鳍。

**研究亮点:**白斑红点鲑是名贵的冷水性经济鱼类, 是丰富我国冷水性鱼类养殖的重要品种之一, 对其种质资源的研究具有重要的意义。本文探明了白斑红点鲑精子的超微结构, 发现精子主要由头部、中段和尾部组成, 头部主要由大量的细胞核构成, 中段袖套内分布两种囊泡, 尾部轴丝是典型的“9+2”微管结构, 轴丝外侧分布上下对称, 但大小不同的两个侧鳍。

**关键词:**白斑红点鲑; 精子; 形态结构; 超微结构

**中图分类号:** Q 954; S 917

**文献标志码:** A

白斑红点鲑 (*Salvelinus leucomaenis*) 隶属鲑科、红点鲑属, 主要分布在太平洋西北部的白令海、鄂霍次克海和日本海, 向南到海参崴, 仅有小部分进入黑龙江河口<sup>[1]</sup>。成庆泰和郑葆珊报道我国红点鲑属鱼类有 2 种, 即花羔红点鲑 (*Satvetinus rnatmu*) 和白斑红点鲑<sup>[2]</sup>。白斑红点鲑呈纺锤形, 体被细小的圆鳞, 身体背部呈褐色, 体侧布满白色或灰色小斑点, 引进国内后定名为白点鲑。由于环境污染和过度捕捞, 近年来该鱼的资源已经基本枯竭, 多年未有捕捞到野生鱼的报道。

20 世纪 70 年代日本进行了白斑红点鲑的自然种群增殖<sup>[3-5]</sup>、野生鱼的人工采卵孵化<sup>[6]</sup>、形态和行为<sup>[7-9]</sup>的相关研究。中国水产科学研究院黑龙江水产研究所于 1996 年 12 月从日本东京水

产大学引进发眼卵 10 000 粒, 国内对白斑红点鲑研究起步较晚, 相应报道也较少<sup>[10-11]</sup>。硬骨鱼类种类繁多, 形态各异, 约有 21 000 多种<sup>[12]</sup>, 其生殖特点不尽相同, 因此其精子结构也有所不同。国内外的学者对硬骨鱼精子的超微结构已经进行了一些报道<sup>[13-21]</sup>, 但未见有关白斑红点鲑精子结构的研究报道。对白斑红点鲑精子的超微结构的研究, 旨在为其繁殖生物学、人工养殖和硬骨鱼类的分类提供有价值的参考资料。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验材料

实验材料为分别于 2009 年 11 月、2010 年 11 月采自黑龙江水产研究所渤海冷水鱼试验站人工培育的成熟亲鱼。

收稿日期: 2011-04-07 修回日期: 2011-07-11

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (201004); 黑龙江省冷水性鱼类种质资源及增殖重点开放实验室项目 (201004); 中国水产科学研究院冷水性鱼类增殖生物学与鱼类生理学重点开放实验室项目 (201004)

作者简介: 张永泉 (1982—), 男, 助理研究员, 硕士, 研究方向为冷水鱼类繁殖和养殖技术。E-mail: atai0805@163.com

通讯作者: 白庆利, E-mail: bql2002sc@hotmail.com

## 1.2 实验方法

采用活体采精的方法,实验共分透射和扫描电镜两部分。透射电镜样品处理:采集活体精液后,用 2.5% 戊二醛和 1% 锇酸双重固定,采用 30% → 50% → 70% → 80% → 90% → 100% 梯度乙醇脱水,树脂包埋,AO 超薄切片机切片,经醋酸铀和柠檬酸铅双染色,采用 JEOL - 1200EX 电镜观察并拍照。扫描电镜样品的处理:将样品用 2.5% 的戊二醛固定 1.5 h, pH 7.4 的 PBS 液漂洗 3 次,2% 的锇酸固定 1.5 h, PBS 液洗 1 次,梯度乙醇脱水,醋酸异戊酯过渡,自然干燥,喷金,JEOL - 6380LV 扫描电镜观察。

## 2 结果

### 2.1 白斑红点鲑精子的外部形态

白斑红点鲑主要由头部、中段和尾部组成(图版 I - 1)。精子头部无顶体,呈椭圆形,长约 24.5  $\mu\text{m}$ ,在中段与头部相连接处,具有植入窝(图版 I - 2)。中段和尾部较长,约为头部的 10 ~ 15 倍(图版 I - 3)。

### 2.2 白斑红点鲑精子超微结构

#### 2.2.1 头部

白斑红点鲑头部呈椭圆形,由图版 II - 1 可见纵切面近似于卵圆形,头部横向最大直径为 1.5 ~ 2.5  $\mu\text{m}$ ,主要结构为排列致密的细胞核,细胞核染色质呈密集的团状,精子头部存在位置不定的网络状间隙,其周围无明显的膜存在。精子头部外侧质膜为单层,紧密包裹着细胞核,在头部下侧偶见电子密度不等且体积相对较大的囊泡存在(图版 II - 2)。细胞核前端无顶体,后端有植入窝,植入窝较深,凹入深度约为头部的 1/3 (图版 II - 3)。

#### 2.2.2 中段

白斑红点鲑精子的中段较短,主要结构为中心粒复合体和袖套。中心粒复合体位于植入窝中,分为近端中心粒和远端中心粒(基体)。图版 II - 4 为精子中断横切可见近端中心粒位于植入窝的前端,近端中心粒的长轴与核的长轴呈垂直分布,由 9 组三联微管构成;图版 II - 5 为中段纵切,可见远端中心粒位于植入窝的后端,其顶部与近端中心粒相连,呈垂直状态,远端中心粒底端向下延伸成为尾部的轴丝。

白斑红点鲑精子袖套较发达与细胞核后端

相连,呈筒状,其中央的空腔为袖套腔,袖套内主要分布线粒体和囊泡。图版 II - 7 纵切可见两侧袖套呈对称分布,含有多个线粒体和囊泡,袖套内的线粒体彼此融合,形成“复合线粒体”。位于袖套中的囊泡有两类:一类囊泡中含有颗粒状电子致密物质;另一类囊泡中不具电子致密物质(图版 II - 8)。

#### 2.2.3 尾部

白斑红点鲑精子的尾部细而长(图版 I - 3)其长度约 227.5  $\mu\text{m}$ 。尾部起始于袖套腔后段,主要结构为轴丝,轴丝的起始端与远端颗粒相连,图版 II - 10 可见轴丝主要由 9 组外周二联微管和一对中心微管,共同构成典型的“9 + 2”微管结构,尾部近核端轴丝外侧具有囊泡鞘,且具有薄厚两面,呈对称分布,厚侧厚度为 0.4  $\mu\text{m}$  左右,薄侧厚度为 0.2  $\mu\text{m}$  左右。图版 II - 11 为尾部横切,可见随着精子尾部不断向下延伸,尾部与袖套距离不断加大。图版 II - 9 为精子尾部纵切,可见中心微管和外侧 9 组微管分别平行向精子尾部延伸。由图版 II - 6 可见尾部中后端外表面生长着由质膜向两侧突出而成的侧鳍,侧鳍对称排列,其发育程度差异显著,一侧明显较另一侧发达。在研究过程中发现尾部具有双“9 + 2”结构的精子,其具有 3 个鳍侧,在质膜内具有“马蹄”状的管腔(图版 II - 12),作者推断此类精子应为变异精子,其具体的游动方式和游动能力以及是否能够受精有待进一步的研究。

## 3 讨论

白斑红点鲑精子由头部、中段和尾部组成,这与黄毛鼠<sup>[22]</sup>和奶牛<sup>[23]</sup>等哺乳类的精子分为头部和尾部不同,与斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)<sup>[13]</sup>、革胡子鲶(*Clarias lazera*)<sup>[14]</sup>、鲤(*Cyprinus carpio*)<sup>[18]</sup>和哲罗鱼(*Hucho taimen*)<sup>[19]</sup>等大多数鱼的精子结构相同,但不同种类精子超微结构上又存在不同程度的差异。

### 3.1 白斑红点鲑精子头部特点

白斑红点鲑精子头部呈椭圆形,顶端无顶体,后端具有较深的植入窝,精子头部由大量紧密排列细胞核组成。CRAIK 报道鲟鱼精子头部具有顶体<sup>[24]</sup>,但哲罗鱼<sup>[19]</sup>、黄颡鱼(*Pseudobagrus fulvidraco*)<sup>[20]</sup>和鲤<sup>[18]</sup>等大多数硬骨鱼类都无顶体,这与作者观察结果相一致。白斑红点鲑精子

细胞核内的染色质密集呈团状,分布较均匀,其中有相对疏松的网络状的间隙,未见颗粒电子致密物质,此结构与同是鲑科的哲罗鱼(*Hucho taimen*)<sup>[19]</sup>和细鳞鱼(*Brachymystax lenok*)<sup>[25]</sup>报道相似,但与黄颡鱼(*Pseudobagrus fulvidraco*)<sup>[20]</sup>、平鲷<sup>[21]</sup>和索氏六须鲶(*Silurus soldatovi*)<sup>[26]</sup>等鱼类精子头部中的核泡结构不同。作者经过实验观察认为该间隙为周围染色质浓缩密集而形成的“空白区域”。但间隙结构与核泡结构是否为鲑科鱼类特有结构,或者是染色质经浓缩后的不同表现形式,尚待进一步研究。

### 3.2 白斑红点鲑精子中段中心粒复合体结构特征

不同种类鱼精子中心粒复合体组成不同,黄颡鱼<sup>[20]</sup>和平鲷(*Rhabdorsargus sarba*)<sup>[21]</sup>的中心粒复合体由近端中心粒、中心粒间体和基体构成,斑点叉尾鲷精子的中心粒复合体由两个基体构成<sup>[13]</sup>,白斑红点鲑精子的中心粒复合体与哲罗鱼<sup>[19]</sup>相同,都是由近端中心粒和基体组成,且近端中心粒都是由9组三联微管组成,但在哲罗鱼精子近端中心颗粒腔发现颗粒状物质,而白斑红点鲑却没有。因此作者认为中心粒复合体的组成、超微结构及排列方式都可作为种的分类特征之一<sup>[21]</sup>。

### 3.3 白斑红点鲑精子尾部结构及其运动方式

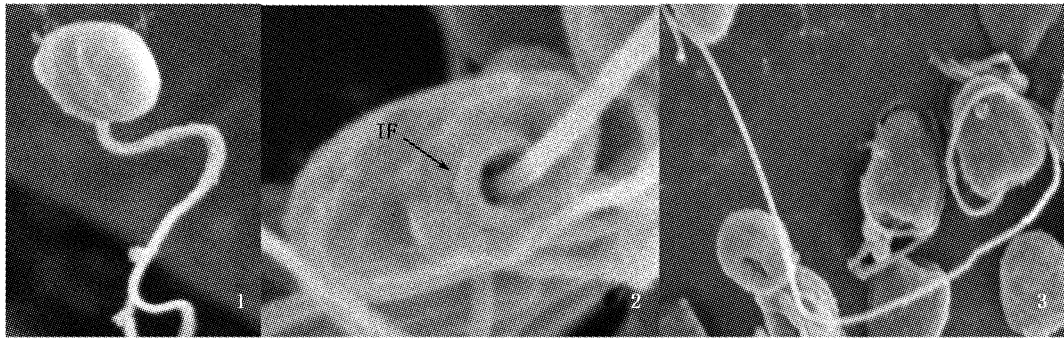
尾部是精子运动的主要器官,发达的侧鳍可以增大精子尾部与水体接触面积,提高精子的游泳速率<sup>[14]</sup>。白斑红点鲑精子尾部的主要结构为轴丝,轴丝的起始端与基体相连,轴丝主要由9组外周二联微管和一对中心微管共同构成典型的“9+2”结构,轴丝外侧发现多个囊泡结构,此结构与索氏六须鲶<sup>[26]</sup>、哲罗鱼<sup>[19]</sup>和黄颡鱼<sup>[20]</sup>等硬骨鱼类相同。

白斑红点鲑精子尾部两侧鳍对称分布,一侧明显较大,且囊泡多靠近侧鳍较大一侧,作者认为白斑红点鲑精子应有背部和腹部之分,侧鳍较大一侧为背部朝上,较小一侧为腹部朝下,游动时尾部左右摆动。作者推断发达的侧鳍起到推动精子前进的作用,并且大大提高精子游动速度,轴丝外分布的多个囊泡结构,应是精子在水中维持平衡和调节体内渗透压的主要结构,其相关作用机理有待进一步研究,鱼类精子的运动方式有待更多的实验来证明。

### 参考文献:

- [1] 尼科斯基. 黑龙江流域鱼类[M]. 高岫,译. 北京:科技出版社,1960:42-44.
- [2] 成庆泰,郑葆珊. 中国鱼类系统检索(上)[M]. 北京:科学出版社,1987:64-66.
- [3] 关泰夫,小島将男. イワナの増殖について-Ⅲ. 餌付期の飼育[J]. 新潟県内水面水产試験場調査研究报告,1978,6(4):30-33.
- [4] 飯野哲也,田中深貴男,田中繁雄. イワナ餌付け飼料の検討[J]. 埼玉県水産試験場研究報告,1987,4(46):11-16.
- [5] 齐藤薫,熊崎隆夫,立川互. イワナの増殖について - v [J]. 岐阜県水产試験場研究报告,1977,3(2):25-28.
- [6] 小原昌和,沢木良宏,山本聡,等. 木曾川産イワナ野生魚の人工採卵[J]. 長野県水産試験場研究報告,1994,3(2):1-3.
- [7] 山本聡,小原昌和,沢木良宏,等. 長野県産イワナの斑点の変異[J]. 長野県水産試験場研究報告,2000,4(4):16-23.
- [8] 山本聡,三城勇. イワナ ニジマス カジカの遊泳特性[J]. 長野県水産試験場研究報告,2001,3(5):9-13.
- [9] 山本聡,河野成実,川之辺素一. 長野県内河川のイワナの肥満度[J]. 長野県水産試験場研究報告,2004,6(3):4-8.
- [10] 王昭明,吴凡修,王新军,等. 白点鲑发眼卵的贮存与人工孵化试验[J]. 中国水产科学,2001,8(4):95-96.
- [11] 张永泉,刘奕,王炳谦,等. 白点鲑胚胎和仔鱼发育[J]. 动物学杂志,2010,45(4):111-120.
- [12] 杨万喜,应雪萍,竺俊全,等. 硬骨鱼类精子发生及其在系统演化研究中的应用前景[J]. 东海海洋,2000,18(3):53-58.
- [13] 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.
- [14] MANSOU N, LAHNSTEINER F, PAITZNER R A. The spermatozoon of the African catfish: fine structure, motility, viability and its behaviour in seminal vesicle secretion [J]. Journal of Fish Biology, 2002, 60(3):545-560.
- [15] HU J H, ZHANG Y Z, FU C L, et al. Ultrastructure of rosy barb *Puntius cotybonius* spermatozoon [J]. Acta Zoologica Sinica, 2005, 51(5):892-897.
- [16] BILLARD R. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species [J]. Reproduction Nutrition Development, 1986, 26(4):877-892.
- [17] GRIER H J. Ultrastructure of the testis in the teleost *Poecilia latipinna* [J]. Journal of Ultrastructure Research, 1973, 45(2):82-92.
- [18] 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.
- [19] 尹洪滨,尹家胜,孙中武,等. 哲罗鱼精子的超微结构[J]. 水产学报, 2008, 32(1):27-31.

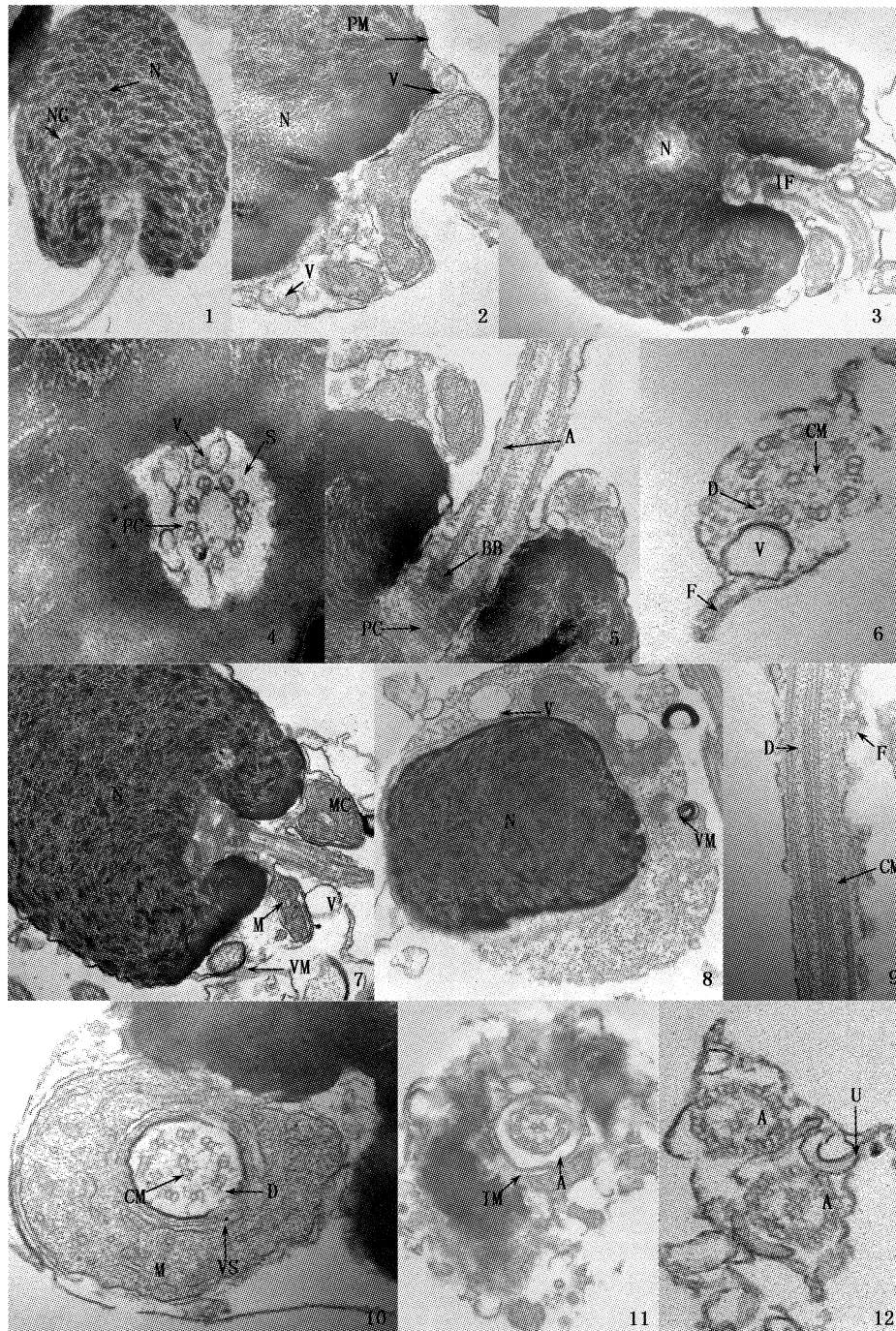
- [20] 尤永隆,林丹军. 黄颡鱼精子的超微结构[J]. 实验生物学报,1996,29(3):235-239.
- [21] 刘雪珠,杨万喜. 平鲷精子的超显微结构[J]. 东海海洋,2004,22(1):43-48.
- [22] 尤永隆,赵翔. 黄毛鼠精子尾部主段超微结构[J]. 动物学报,1993,39(4):355-361.
- [23] 尤永隆,高小莹. 奶牛精子尾部主段外周致密纤维的电子显微镜观察[J]. 实验生物学报,1992,25(4):329-338.
- [24] CRAIK J C A. Levels of calcium and iron in the ovaries and eggs of cod. *Gadus morhua* L, and plaice *Pleuronectes platessa* L [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*,1986,83(3):515-517.
- [25] 张旭晨,王所安. 细鳞鱼精巢超微结构和精子发生[J]. 动物学报,1992,38(4):355-358.
- [26] 尹洪滨,孙中武,刘玉堂,等. 索氏六须鲶精子的超微结构[J]. 水产学报,2000,24(4):302-305.



图版 I 白斑红点鲑精子形态结构

Plate I Morphology of the spermatozoon of *Salvelinus leucomaenis*

1. 精子头部顶部扫描,  $\times 7\ 560$ ; 2. 精子头部底面扫描,  $\times 17\ 800$ ; 3. 精子侧面整体扫描,  $\times 6\ 500$ 。IF. 植入窝。



图版 II 白斑红点鲑精子超微结构

Plate II Ultrastructure of the spermatozoon of *Salvelinus leucomaenis*

1. 精子头部纵切,  $\times 10\ 400$ ; 2. 精子头部囊泡纵切,  $\times 20\ 300$ ; 3. 精子头部植入窝纵切,  $\times 14\ 500$ ; 4. 精子中段中心粒横切,  $\times 40\ 800$ ; 5. 精子中段中心粒复合体和袖囊纵切,  $\times 24\ 600$ ; 6. 精子尾部后端横切,  $\times 51\ 000$ ; 7. 精子头部和中段整体纵切,  $\times 14\ 800$ ; 8. 精子中段袖囊横切,  $\times 8\ 400$ ; 9. 精子尾部中段中纵切,  $\times 11\ 100$ ; 10. 精子尾部近核端横切,  $\times 24\ 800$ ; 11. 精子尾部中段横切,  $\times 51\ 000$ ; 12. 变异精子尾部横切,  $\times 43\ 000$ 。

IF. 植入窝; N. 细胞核; NG. 细胞核中间隙; PM. 细胞质膜; PC. 近端中心粒; S. 袖套腔; V. 囊泡; BB. 远端中心颗粒(基体); A. 轴丝; M. 线粒体; VM. 含有电子致密物质的囊泡; VS. 囊泡鞘; MC. 复合线粒体; F. 侧鳍; IM. 袖套内膜; D. 轴丝的外周二联微管; CM. 中心微管; U. 马蹄形管腔。

## Morphosis and ultrastructure of the spermatozoon of *Salvelinus leucomaenis*

ZHANG Yong-quan<sup>1</sup>, YIN Jia-sheng<sup>1</sup>, LIU Yi<sup>2</sup>, GU Wei<sup>1</sup>, XU Ge-feng<sup>1</sup>, BAI Qing-li<sup>1</sup>

(1. Heilongjiang Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, Heilongjiang, China; 2. College of Animal Science and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang, China)

**Abstract:** The morphous and ultrastructural organization of *Salvelinus leucomaenis* spermatozoon was observed by scanning and transmission electron microscopes. The spermatozoon with no acrosome consisted of the head, middle piece and the tail. The head of the spermatozoon was oval shape and mainly consisted of the nucleus. The nucleus, within which there were some netlike gaps, consisted of electron dense chromatin materials. In posterior extremity of the nucleus, implantation fossa trapped into the internal to the 1/3. The middle piece consisted of centriolar complex and sleeve. The proximal centriole, which is made up of nine triplets of peripheral microtubules, is perpendicular to the distal centriole which extended downward to form the kinetosome of axial filament. The sleeve, which contained a high number of mitochondria and two kinds of vesicles, was connected to the posterior end of the nucleus. Some mitochondria were fused with each other and formed a complex chondriosome. The tail of *Salvelinus leucomaenis* spermatozoon was slim and long. The main composition of the tail was axoneme whose structure was the typical model of "9 + 2" and surrounded by vesicles. The plasma membrane was prominent symmetrically up and down to form two lateral fins with different sizes.

**Key words:** *Salvelinus leucomaenis*; spermatozoon; morphosis; ultrastructure