

北方山溪鲵精巢生精小叶与间质区在繁殖周期中显微结构的变化

王宏元 王小平 张育辉* 黄敏毅

(陕西师范大学生命科学院 西安 710062)

摘要:观察北方山溪鲵(*Batrachuperus tibetanus*)精巢生精小叶和间质区在繁殖周期的显微结构,并测量了生精小叶的直径、生精小叶和间质区的体密度。结果显示,在精子排空期,精巢中排空区内间质细胞最发达,体密度达到最大值。在精子形成期和成熟期,间质区体密度比增殖期和成熟分裂期明显增大。说明间质区体密度的增大与精子形成以及繁殖活动密切相关,排空小叶中的支持细胞可能对间质区的间质细胞发育起重要作用。

关键词:北方山溪鲵;生精小叶;间质区

中图分类号:Q954 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2005)03-72-05

Microstructure of Seminiferous Lobules and Interstitial Tissue during the Reproductive Cycle in *Batrachuperus tibetanus*

WANG Hong-Yuan WANG Xiao-Ping ZHANG Yu-Hui HUANG Min-Yi

(College of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

Abstract: Microstructure of seminiferous lobules and interstitial tissue were observed during the reproductive cycle in *Batrachuperus tibetanus*, and seminiferous lobules diameters (DSL), volume densities of seminiferous lobules (VvSL) and interstitial tissue (VvIT) were calculated. A developed interstitial tissue was found adjacent to lobules and the VvIT reached maximum in spermatation. During the spermiogenesis, the VvIT increased significantly in comparison to the proliferation and meiosis periods. It was showed that hypertrophy of interstitial tissue (IT) was associated with the spermiogenesis and reproduction. The Sertoli cell in evacuated lobules may be involved in the IT development.

Key words: *Batrachuperus tibetanus*; Seminiferous lobule; Interstitial tissue

由于气候和栖息地的差异,两栖动物精子发生可以分为连续型精子发生(continuous spermatogenesis)和非连续型精子发生(discontinuous spermatogenesis)两种类型。连续型精子发生的动物多分布在热带和亚热带,非连续型精子发生的动物栖息在温带和寒带^[1]。有尾两栖类虎纹钝口螈(*Ambystoma tigrinum*)属非连续型精子发生,依据生精细胞发育,可划分为5个时期:早期精子发生期,即精原细胞增殖期;成熟分裂期;精子形成期;排精期;精巢静止期^[2]。在有尾两栖类精子发生的早期,少量的间质组织包

绕生精小叶,间质组织内间质细胞呈纤维状^[2,3]。成熟精子从生精小叶排出时,生精小叶内支持细胞退化,其周围的间质组织转变为发达的腺组织(glandular tissue)。腺组织内间质细胞具有明显的类固醇激素分泌细胞的超微结构

基金项目 陕西省自然科学基金资助项目(No. 2001 SM26);

* 通讯作者, E-mail: yu-huizhang@163.com;

第一作者介绍 王宏元,男,硕士,讲师;研究方向:两栖动物生殖内分泌。

收稿日期 2004-09-16,修回日期 2005-03-09

特征^[4]。这些腺组织随着下一轮精子发生的进行逐渐退化。可见在两栖有尾类精巢中精子发生和间质细胞的分化在时间上呈分离趋势。北方山溪鲵 (*Batrachuperus tibetanus*) 属有尾目小鲵科,是一种分布在高海拔,性喜冷的动物。有关秦岭山区北方山溪鲵的生精细胞发育的年周期变化,已有过报道^[5]。本文通过在组织切片上测量北方山溪鲵精巢精子发生的不同阶段内生精小叶和间质区的变化,以期探讨精子发生和间质区之间的关系,为丰富生殖内分泌学基础理论和北方山溪鲵繁育及保护工作奠定基础。

1 材料与方法

雄性成体北方山溪鲵共 21 尾,体重 20~28 g,在 2003 年 5~11 月和 2004 年 2 月,每月 3 尾,采自秦岭北坡的高山溪流中,东经 107°58'15",北纬 33°47'03",海拔高度为 1 600~2 000 m。将动物经乙醚麻醉后剖腹取出精巢, Bouin's 液固定。做常规石蜡切片,厚 5~8 μm , H. E 染色。Motic BA 300 显微镜观察,测量生精小叶直径。依据形态计量原理,在单位参照物体积中,某种结构体积与参照物体积之比等于该结构面积与参照物面积之比^[6]。用图像分析系统 (Motic images advanced 3.1) 计量生精区和间质区的体密度。所得数据用统计软件 SPSS 处理。表中所列参数值均为平均值 \pm 标准差 ($\bar{X} \pm SD$)。

2 结果

2.1 组织学观察 在北方山溪鲵精巢中,有生精小叶和间质区两种结构。在生精小叶中,支持细胞包绕生精细胞构成生精小囊 (spermatogenic cyst)。生精小囊是生精小叶内的基本结构单位,同一生精小囊内的生精细胞同步发育。而在同一小叶中,不同生精囊中的生精细胞发育则不尽相同。间质区分布于生精小叶的周围。

2 月,在精巢纵切面上可分为 2 个区域,精巢被膜下浅层区域为精子排空区,深层是精原细胞增殖区 (图版 I:1)。精子排空区是精子排

出后留下的排空小叶 (evacuated lobules), 周围则是发达的间质组织,其中分布的间质细胞核大且圆,核仁明显。排空小叶内的支持细胞则围成管腔结构,腔内留存有少量精子 (图版 I:2,3)。在精原细胞增殖区内,生精小叶中生殖细胞为次级精原细胞,这些次级精原细胞是由初级精原细胞增殖分裂而来的。增殖区内生精小叶中央有一空腔,是排空小叶排精时精子外排的通道。周围间质组织则不发达,散布的间质细胞呈纤维样 (图版 I:4)。5 月,随着精原细胞的进一步增殖,被膜下排空小叶被深层增殖区完全替代。6 月,生精小叶内出现初级精母细胞,生精细胞开始进入成熟分裂期,可见各个时期成熟分裂相,小叶周围间质细胞呈纤维样,不发达 (图版 I:5)。7 月,正在变态精子细胞出现在生精小叶内,生精细胞进入精子形成期。此时小叶周围的间质细胞仍呈纤维样 (图版 I:6)。8 月,生精小叶内出现大量成熟精子。9 月,在精巢深层临近集合管处的初级精原细胞开始增殖,标志新一轮精原细胞已经增生。11 月,在精巢横断面可见两个区域,即深层的精原细胞增殖区和浅层的成熟精子区 (图版 I:7)。成熟区内的成熟精子充满小叶,小叶周围为间质细胞 (图版 I:8)。

2.2 立体定量学分析 从表 1 可见,在精子排空期,生精小叶的平均直径最小,为 217.83 μm 。生精小叶的体密度与其周围间质区的体密度比值 0.4,也为最小值。随着精原细胞的增殖,生精小叶的直径与排空期比较则明显变大,平均直径为 328.30 μm ,生精小叶与间质区的体密度比值也增大为 6.1。生精细胞进入成熟分裂阶段后,生精小叶直径继续变大,生精小叶与间质区的体密度比值达到最大值 10.1。精子形成阶段,生精小叶的直径最大,平均直径为 417.08 μm 。此时生精小叶与间质区的体密度比值则变小,为 4.5。精子成熟后,此时的生精小叶直径以及生精小叶与间质区的体密度比值和精子形成期相比较,没有明显差异。

表 1 生精细胞不同发育时期
生精小叶直径 (DSL)、生精小叶 (VvSL) 和间质区 (VvIT) 的体密度

生精细胞发育时期	生精小叶直径 DSL (μm)	生精小叶体密度 VvSL (%)	间质区体密度 VvIT (%)	VvSL / VvIT
精子排空期	217.83 ± 28.55	30.37 ± 4.62	69.63 ± 4.62	0.4
精原细胞增殖期	328.30 ± 24.03	85.96 ± 1.09	14.04 ± 1.09	6.1
精母细胞成熟分裂期	364.67 ± 25.44	91.03 ± 0.09	8.97 ± 0.09	10.1
精子形成期	417.08 ± 29.39	82.05 ± 1.06	17.95 ± 1.06	4.5
精子成熟期	408.75 ± 5.21	82.80 ± 0.95	17.20 ± 0.95	4.8

表中数据为平均值 ± 标准差 ($\bar{X} \pm SD$)

3 讨论

在有尾两栖动物精子发生的早期,生精小叶被少量的间质组织包绕。在精子形成和排精期,与生精小叶毗邻的间质组织内的间质细胞的数量大量增加,形成腺组织^[7-9]。在北方山溪鲵精巢排空区,此时生精小叶直径最小,体密度也为全年的最小值 30.37,而周围的间质区体密度达到最大值 69.63,可能由于精子排出所致。在北方山溪鲵精子形成期和成熟期,间质组织的体密度是 17.95,与精子排空期比较,间质组织的体密度显著减少,但与精子发生的早期阶段比较,间质组织的体密度则明显增加。这与 Pudney 等观察的结果基本一致。腺组织主要是由发达的间质细胞组成的,这些细胞具有典型的类固醇激素分泌特征,可以产生睾酮^[9,10]。在两栖类动物中,精子形成和精子排放均为睾酮依赖过程^[4,11]。在精子形成和成熟期,北方山溪鲵精巢内较为发达的间质区,与精子形成和成熟依赖一定的睾酮是相适应的。精子排空期是北方山溪鲵的繁殖期,此时,北方山溪鲵精巢内间质区高度发达,可合成大量的雄激素,这不仅与北方山溪鲵精子排放过程相适应,而且可调节性行为的起始以及维持第二性征。

在虹鱗 (*Oncorhynchus mykiss*) 精巢中,周围间质组织体积增大是由于在间质组织中产生胶原纤维所致,这些胶原纤维可以在精子排出生精小叶后,增加精巢的稳定性^[12]。在两栖动物,生精小叶中精子排出精巢,周围间质细胞增大的机制依旧没有澄清。一般认为,在两栖动物,腺组织的形成与支持细胞的退化是紧密联

系的。随着排精活动的发生,支持细胞中一些生物因子扩散到周围的间质区,诱导纤维样的间质细胞分化并增大,导致间质区的增生。同时生精小叶内的支持细胞脱落退化^[3,7]。电镜观察证实,在北方山溪鲵精巢中,精子成熟后,支持细胞有退化的现象^[13]。在硬骨鱼精巢中发现,精子成熟后,一部分支持细胞退化,在生精小叶中参与清除或吞噬生精细胞残体,另一部分则转化为立方型的分泌细胞,这些分泌细胞围成一个管腔,参与排出精子^[14]。在牛蛙 (*Rana catesbeiana*) 精巢中也发现支持细胞围成的管腔结构,这种管腔结构不仅参与精子的排出,而且对周围间质细胞增大有重要调节作用^[1]。在北方山溪鲵精巢的精子排空后的生精小叶中,也发现支持细胞围成的管腔结构。说明支持细胞的退化或转化为分泌细胞可能调节周围间质细胞的分化。

参 考 文 献

- [1] Sasso-cerri E, De Faria F P, Freymuller E, et al. Testicular morphological changes during the seasonal reproductive cycle in the bullfrog *Rana catesbeiana*. *J Experim Zool*, 2004, **301A**: 249 ~ 260.
- [2] Norris D O, Norman M F, Pancak M K, et al. Seasonal variations in spermatogenesis, testicular weights, vasa deferentia, and androgen levels in neotenic male tiger salamanders, *Ambystoma tigrinum*. *Gen Comp Endocrinol*, 1985, **60**: 51 ~ 57.
- [3] Pudney J, Callard G V. Organization of interstitial tissue in the testis of the salamander *Necturus maculosus* (Caudata: Proteidae). *J Morphol*, 1984, **181**: 87 ~ 95.
- [4] Fraile B, Paniagua R, Rodriguez M C, et al. Annual changes in the number, testosterone content, and ultrastructure of glandular tissue cells of the testis in the marbled newt *Triturus marmoratus*. *J Anat*, 1989, **167**: 85 ~ 94.

- [5] 王宏元,张育辉.北方山溪鲵精巢显微结构的年周期变化.动物学研究,2004,25(6):484~490.
- [6] 纳冬梅,王荣华,孙强等.人胚胎视皮质神经元发育的体视学分析.解剖学杂志,1999,22(6):529~531.
- [7] Ucci A A. A fine-structural study of interstitial cell changes in the testes of *Necturus maculosus* during a portion of the annual cycle, and possible evidence for local feedback control by seminiferous epithelium. *Am J Anat*, 1982, 165: 27~38.
- [8] Pudney J, Canick J A, Mak P, et al. The differentiation of Leydig cells, steroidogenesis, and the spermatogenic wave in the testis of *Necturus maculosus*. *Gen Comp Endocrinol*, 1983, 50: 43~66.
- [9] Pudney J A. Overall view of the organization of the vertebrate gonad and the structure of steroidogenic cells. In: Chester-Jones I, Ingleton P M, Phillips J G eds. *Fundamentals of Comparative Vertebrate Endocrinology*. New York: Plenum Press, 1987, 71~83.
- [10] Saez F J, Madrid J F, Aparicio R, et al. Carbohydrate moieties of the interstitial and glandular tissues of the amphibian *Pleurodeles waltl* testis shown by lectin histochemistry. *J Anat* 2001, 198: 47~56.
- [11] Rastogi R K. Seasonal cycle in anuran (Amphibia) testis; the endocrine and environmental controls. *Boll Zool*, 1976, 43: 151~172.
- [12] Cauty C, Loir M. The interstitial cells of the trout testis (*Oncorhynchus mykiss*): ultrastructural characterization and changes throughout the reproductive cycle. *Tissue Cell*, 1995, 27: 383~395.
- [13] 王宏元,张育辉.北方山溪鲵精巢支持细胞的显微与超微结构观察.陕西师范大学学报,2004,32(1):86~89.
- [14] Fishelson L. Comparison of testes structure, spermatogenesis, and spermatocytogenesis in young, aging, and hybrid cichlid fish (Cichlidae, Teleostei). *J Morphol*, 2003, 256: 285~300.

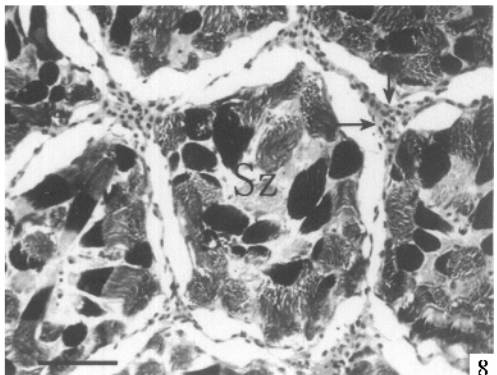
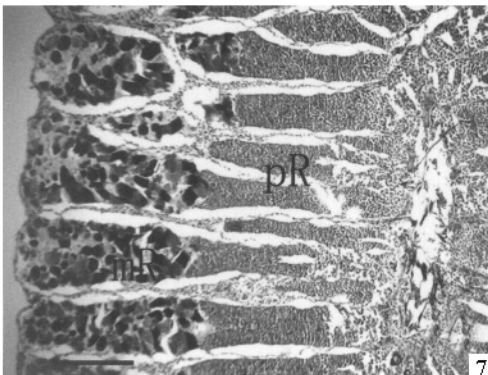
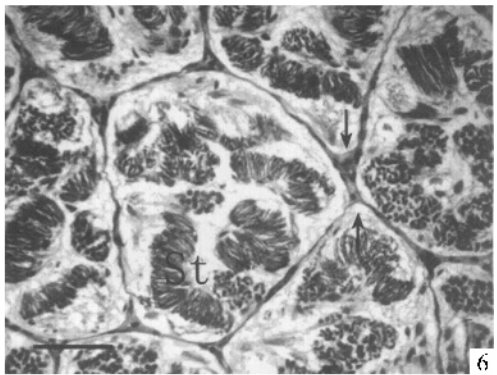
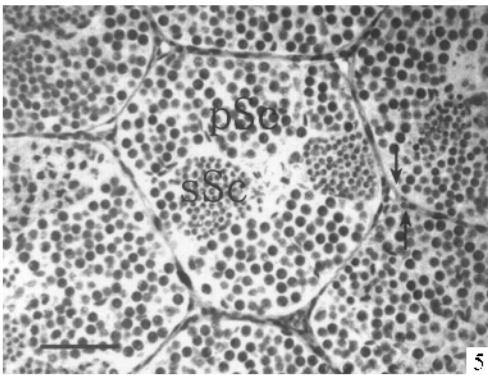
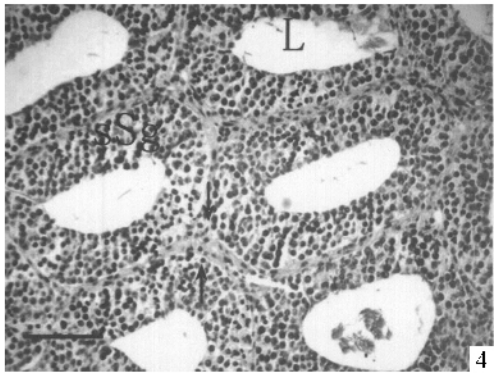
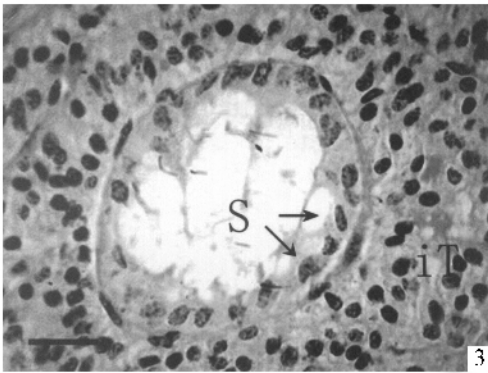
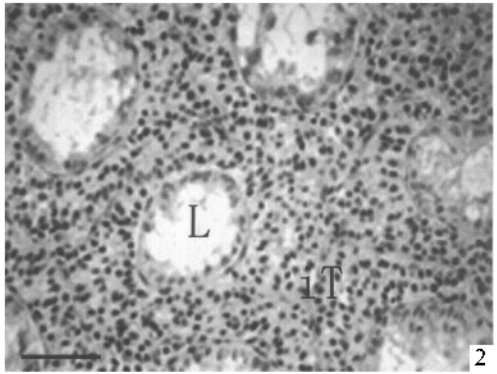
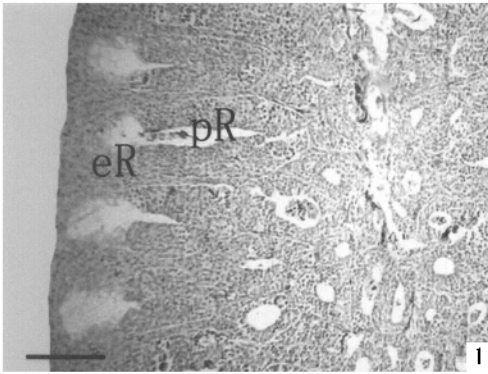
图 版 说 明

- 2月精巢纵切面,示排空区和增殖区(Bar = 380 μm);
- 2月精巢,示排空区内排空精子的生精小叶周围发达的间质组织,箭头示支持细胞(Bar = 130 μm);
- 2月精巢,示排空区生精小叶内支持细胞围成的管腔结构(Bar = 50 μm);
- 2月精巢,增殖区生精小叶内次级精原细胞,箭头指间质组织(Bar = 150 μm);
- 6月精巢,生精小叶内生精细胞处于成熟分裂期,箭头指间质组织(Bar = 130 μm);
- 7月精巢,生精小叶内精子细胞处于精子形成期,箭头指间质组织(Bar = 140 μm);
- 11月精巢纵切面,示增殖区和成熟区(Bar = 310 μm);
- 11月精巢,示成熟区内成熟精子,箭头指间质组织(Bar = 140 μm).

sSg: 次级精原细胞 (secondary spermatogonia); pSc: 初级精母细胞 (primary spermatocyte); sSc: 次级精母细胞 (secondary spermatocyte); St: 精子细胞 (spermatid); Sz: 精子 (spermatozoa); S: 支持细胞 (sertoli cell); mR: 成熟区 (mature region); L: 生精小叶管腔 (lumen); pR: 增生区 (proliferative region); eR: 排空区 (evacuated region); iT: 间质组织 (interstitial tissue).

王宏元等 北方山溪鲵精巢生精小叶与间质区在繁殖周期中的显微结构的变化
 WANG Hong-Yuan *et al.* Microstructure of Seminiferous Lobules and Interstitial Tissue during the Reproductive Cycle in *Batrachuperus tibetanus*

图版 I
 Plate I



图版说明见文后