文章编号:1674-7054(2010)01-0021-06

# 塔形马蹄螺精子发生的超微结构研究

吴洪流,蒲利云,冯永勤,董杨,刘 璐,严俊贤

(热带生物资源教育部重点实验室(海南大学),海南大学海洋学院,海南海口 570228)

**摘 要:**应用透射电镜显微镜技术观察塔形马蹄螺(*Trochus pyramis* Born)精子的发生过程。结果表明:塔形 马蹄螺精子的发生历经精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精细胞和成熟精子5个阶段。精原细胞呈 近椭圆形,染色质分布较均匀,线粒体较少;初级精母细胞较大,染色质凝聚成小块状,线粒体增多;次级精母 细胞较初级精母细胞小,线粒体较多,部分线粒体发生融合,呈扁囊状。精细胞的分化可分为5期,主要特点 为:I期,一些高电子致密颗粒参与顶体的形成;II期,核形态由椭圆形到近圆形,再逐渐拉长为长圆柱状;II 期,核染色质以颗粒状形式凝集成较大的团块;IV期,线粒体逐步融合、体积增大和嵴发达;V期,中心体移动 及鞭毛形成,核内染色质凝聚成高电子密度均质化,胞质逐渐减少。成熟精子为原生型,由头部、中段和尾部 (鞭毛)3部分组成。

关键词: 塔形马蹄螺; 精子发生; 超微结构

中图分类号: Q 959.212 文献标志码: A

动物精子的形态结构和发生过程是生殖生物学的重要研究内容,其结构及运动方式与受精过程密切 相关。因此,软体动物精子发生的超微结构研究历来受到众多学者的重视<sup>[1-13]</sup>。目前,国内外对腹足类 软体动物精子发生的超微结构研究较多<sup>[4-13]</sup>,迄今为止,国内的报道对原始腹足目动物精子发生的研究 多侧重于鲍科<sup>[8-13]</sup>,而马蹄螺科的研究未见报道。

塔形马蹄螺(*Trochus pyramis* Born)隶属于软体动物门(Mullusca)、腹足纲(Gastropoda)、前鳃亚纲(Prosobranchia)、原始腹足目(Archaegastropoda)、马蹄螺科(Trochidae),是我国南方沿海的一种重要的海产经济贝类。关于该种类的生殖系统的形态解剖学和组织学、人工育苗的研究已经开展<sup>[14-16]</sup>,但有关其精子发生的超微结构尚未见报道。为此,笔者对塔形马蹄螺精子发生的超微结构变化进行观察,旨在为腹足类的繁殖生物学及相关的基础研究积累参考资料。

### 1 材料与方法

实验用塔形马蹄螺样采自海南省琼海市长坡镇的自然海区,生活个体壳高 3.74~5.86 cm,壳宽 4.20~5.68 cm,壳体层 4~5 cm。活体带回实验室,进行活体解剖,快速取出精巢,切成 1 mm<sup>3</sup> 左右的小块,用  $\varphi = 2.5\%$  戊二醛和  $\varphi = 1\%$  锇酸双固定,梯度酒精脱水,Epon812 渗透包埋,LKB-Nova 超薄切片机切片,醋酸铀和柠檬酸铅双重染色,Joel – 1010 型透射电镜下观察、拍照。

精子形态测量主要在电镜照片上直接进行,为了尽可能准确,核的测量仅测定同时连接有顶体和中 段的精子的核长和核宽;顶体、顶体凹陷和核前内凹陷的测量仅测定头部形态完整的精子;顶体宽、核宽 分别指顶体基部和核基部的宽度。

## 2 结 果

2.1 **精原细胞** 细胞体积最大,紧贴分布于精巢生殖小管的基膜部。细胞呈椭圆形,大小为6.3 μm× 4.1 μm。细胞质较少,含有少量圆形线粒体,其嵴稀少而短;内质网稀少,呈小泡或小管状;未见高尔基体

收稿日期: 2009-07-07

基金项目:海南省教育厅自然科学资助项目(琼教高HJKJ200721);海南省自然科学基金项目(0306)

作者简介:吴洪流(1964 -),男,海南临高人,海南大学海洋学院副教授,硕士.

等细胞器。但胞质中有少许具膜的电子致密颗粒和溶酶体。细胞核大,位于细胞中央,大小为4.3  $\mu$ m × 3.4  $\mu$ m,核膜清晰,核周腔明显;核中异染色质少,呈絮状附于核膜内侧或不均匀散布在核质中(图版I:1)。 2.2 初级精母细胞 由精原细胞生长转化而来,细胞逐步脱离基膜。发育早期的初级精母细胞呈椭圆形,大小约为6.1  $\mu$ m × 3.6  $\mu$ m。进入减数分裂期的初级精母细胞大多呈卵圆形,约5.5  $\mu$ m × 4.1  $\mu$ m。胞质电子密度增高;线粒体数量增多,体积增大,嵴渐增多,分布在细胞的一侧;出现少量内质网、游离核糖体、高尔基体,电子致密颗粒和溶酶体数量增多,溶酶体的直径为0.36  $\mu$ m,内容物较均一。在一些切面上可见到1~2个横切的"9 + 2"轴丝结构。细胞核大小为4.7  $\mu$ m × 4.0  $\mu$ m,偏向细胞一极,核周腔较大;核内染色质增多,凝集成不规则团块状或条状分布于其中(图版I:1,2,3)。



图版 I 塔形马蹄螺精子发生的超微结构

1. 精原细胞和初级精母细胞,示胞核、线粒体、溶酶体及轴丝,×4000;2. 初级精母细胞,示胞核、染色体、线粒体和溶酶体,×5000;3. 初级精母细胞和次级精母细胞,示胞核、线粒体、溶酶体、电子致密颗粒和轴丝,×6000;4. 次级精母细胞、示胞核、线粒体、溶酶体、轴丝,×6000;5. 次级精母细胞和精细胞Ⅰ期,示胞核、染色质、溶酶体、线粒体、电子致密颗粒和轴丝,×6000;6. 精细胞Ⅰ期,示染色质、位于核前的前顶体囊、线粒体、溶酶体及轴丝,×10000;7. 精细胞Ⅰ期和精细胞Ⅱ期,示胞核、位于核后的近端中心粒、线粒体、前顶体和高尔基体,×10000;8. 精细胞Ⅲ期,示圆柱状胞核、核泡、前顶体、线粒体、远端中心粒和近端中心粒及轴丝,×15000;9. 精细胞Ⅳ期,示圆柱状胞核、核后窝、远端中心粒、近端中心粒、颈体、线粒体和鞭毛,×12000(各符号说明与图版Ⅱ同)。

2.3 次级精母细胞 初级精母细胞经第1次成熟分裂(减数分裂)后形成染色体减半的次级精母细胞, 这时期常见核分裂为二,而胞质未见分开的现象,形成双核细胞。细胞卵圆形,约4.5 μm×3.7 μm。胞 质电子密度高;线粒体体积较大,数量增多,一些线粒体发生融合而呈扁囊状,一些线粒体仍呈初始的椭 囊状。电子致密颗粒和溶酶体逐渐集中于细胞的一端。"9+2"轴丝结构明显可见。胞核也近卵圆形,约 3.2 μm×2.7 μm;局部核周腔清楚可见;核内呈细颗粒状的异染色质进一步凝聚成大团块,常染色质区域 变小(图版 I:3,4)。 2.4 精细胞及其分化 精细胞是由次级精母细胞经第2次成熟分裂产生,体积较小,精细胞逐渐分化成 熟形成精子,其过程较为复杂,根据精细胞在变态期间胞质与胞器的发育特征、核染色质凝集程度及形态 等的变化,将其分为5个时期。

2.4.1 精细胞 I 期 细胞呈椭圆形,约3.9 μm×2.7 μm,可见到部分胞质未完全分开的双核细胞。在 细胞核的一侧开始出现前顶体囊的雏形,内含电子密度中等的均匀絮状物。胞质中线粒体进一步融合, 并逐渐移向细胞一端,数量较次级精母细胞开始减少,但仍可见内质网、溶酶体和核糖体散布,部分细胞 质开始往细胞的一侧或核后迁移。在一些细胞内可清楚地观察到轴丝的横切。核形仍与胞体一致,约 2.5 μm×1.9 μm,核内染色质由较均匀弥散状分布而逐渐聚合成致密的团块状,相互连接,占据核内大部 分空间(图版 I:5)。

2.4.2 精细胞 II 期 细胞呈椭圆形,约3.3 μm×2.2 μm. 前顶体囊迁移至核的前端并不断增大,基本呈 椭圆形。线粒体逐渐移至核的后端,开始融合为少数几个,呈圆形或椭圆形,嵴增长;同时,中心体也开始 往核后端移至线粒体之间,可观察到轴丝结构。细胞质继续往核后退缩。核多为椭圆形,约2.0 μm×1.6 μm;核周腔不明显;核内染色质颗粒逐渐变粗,并进一步浓缩呈致密团块状,电子致密度明显增大,多数染 色质贴附于细胞核膜内面分布,核内有许多空泡状的电子密度疏松的区域。核与前顶体囊相接触面的中 央略内凹(图版 I:6)。

2.4.3 精细胞Ⅲ期 该期细胞形状大小与Ⅱ期相似,约3.1 μm×2.0 μm。前顶体囊的内含物继续增 多,逐渐聚集形成的形状较为规则、圆形、外膜明显,内充满均匀的高电子密度物质前顶体,但含有一些中 空的膜泡。线粒体移至核的一端后,线粒体进一步融合,形成数量少、体积大的线粒体集合体。中心体移 至核后窝线粒体之间,2 个中心粒相互垂直排列,有1 个横切面为近圆形,另1 个为短棒状,可清楚观察到 轴丝结构。大部分胞质退至核后,前顶体和核周围仍留有薄层胞质,胞质中可见少量高尔基膜囊位于前 顶体附近。核近卵圆形,约1.8 μm×1.5 μm。核周腔不明显,核内染色质大部分融合成块趋向高电子密 度物质均质化,但局部仍可见电子密度疏松的区域。核前端中央逐渐内凹,形成雏形核前窝,内含密度较 低的絮状物质(图版Ⅰ:7.8)。

2.4.4 精细胞IV 期 细胞形态逐渐与精子相似,细胞体积进一步缩小,约2.8 μm×1.5 μm。前顶体继续发育,外观呈钝圆锥形,内部膜泡消失,内含物大多呈均质;前顶体基部临核面的中央内凹,形成浅锥状的顶体下腔,内含电子密度与顶体类似的物质。细胞质大量减少。精子中段形成,球状线粒体堆积于核后,嵴长而密集;中心粒位于核后端的线粒体球之间。核形态趋向圆柱状,大小为1.6 μm×1.3 μm;染色质浓缩,大面积呈均质化,电子密度进一步加大;染色质空缺的透明区呈不规则小囊泡状,或称核泡,其内有的可见少许膜囊或颗粒物质。核前窝较明显。核后端与线粒体相接触的地方内凹形成植入窝(图版I.9)。

2.4.5 精细胞V期 与第 Ⅳ期相比,本期主要变化是细胞核的延长。细胞大小为3.2 µm×1.4 µm,形态与精子基本相似。前顶体物质密度增大,前顶体进一步分化,呈马蹄形扣在核端,并向内凹陷,逐渐形成钝圆锥形的顶体,此凹陷称为顶体凹陷;核与顶体之间的腔隙,称为顶体下腔,顶体腔内充满低电子密度物质;顶体下腔进一步向前凹入,顶体形成。核延长呈长圆柱状,为1.9 µm×1.1 µm。核内染色质高度浓缩,更均质致密,有较少的核泡存在。核前窝凹陷加深,呈明显浅"U"字形。核后窝处5个线粒体包围中心粒;鞭毛已形成,由被原生质膜包被的轴丝微管组成,轴丝为典型的"9+2"结构。最后,精细胞丢弃多余的细胞质而演变为成熟的精子(图版 II:1)。

2.5 成熟精子结构 通过电镜观察塔形马蹄螺精子为原生型精子,可分为头部、中段和尾部(鞭毛)3部分。 2.5.1 头部 精子头部长1.9 μm,主要包括顶体、顶体下腔和细胞核3部分。顶体位于头部最前端,其 后与核相连,呈圆锥形,顶端较钝;顶体长0.62 μm,顶体基部宽0.67 μm,顶体电子密度比较均匀;顶体的 后端与核相接触的部分向顶体内凹陷,称顶体下腔,呈"V"字型,长为0.46 μm,占整个顶体长度的2/3 以 上。在核前方与顶体凹陷相对应的区域向核内凹陷形成的核前窝,呈浅"U"字型,长0.22 μm,约占整个 细胞核长的1/6;顶体下腔中有中等电子密度物质存在,电子密度比顶体的电子密度低,较为疏松。细胞 核呈圆桶状,长1.19 μm,中部核的宽约1.01 μm,前端比后端略小,中间比后端略为突出,核后端凹陷形 成的核后窝。细胞核内染色质致密,有一到几处核泡存在,细胞核电子密度比较均匀,与顶体的电子密度 差异不明显(图版Ⅱ:2.4)。

2.5.2 中段 中段较短,长0.53 μm,宽1.3 μm,主要由中心粒、线粒体组成。中心粒1 对,短棒状,位于中 段中央,二者相互垂直,分别为近端中心粒和远端中心粒。近端中心粒附于核后窝,其长轴方向与精子的长



轴垂直;远端中心粒,连接精子的尾部,其长轴与精子的长轴平行。中心粒外侧环绕有5个呈辐射状或梅花状排列的球型线粒体;中部横切,有5个大小不一的线粒体切面;中部纵切,有2个线粒体切面(图版II;2~5)。

#### 图版Ⅱ 塔形马蹄螺精子发生的超微结构

1. 精细胞V期,示延长的胞核、顶体、顶体下腔、线粒体、中心粒和鞭毛,×10 000;2. 精子纵切面,示头部、中段和尾部鞭毛、细胞核、顶体下腔、核后窝、线粒体、远端中心粒和近端中心粒,×20 000;3. 精子顶体纵切面和精子细胞核横切面,示细胞核、顶体、顶体下腔、核前窝,×15 000;4. 精子中部横切面,示线粒体和远端中心粒,×20 000;5. 精子末段(鞭毛)纵切面,示质膜、双联体微管和中心微管,×15 000;6. 精子末段(鞭毛)横切面,示质膜、双联体微管和中心微管,×25 000。

A:顶体;AX:轴丝;C:中心粒;Ch:染色质;CM:中心微管;DC:远端中心粒;Dg:电子致密颗粒 DM:双联体微管;F:鞭 毛;FNF:核前窝;C:高尔基体;M:线粒体;N:细胞核;Nv:核泡;PA:前顶体;PAV:前顶体囊;PC:近端中心粒;PNF:核后 窝;Ps:初级精母细胞;SaC:顶体下腔;Sg:精原细胞;Sp-Ⅰ:精细胞Ⅰ期;Sp-Ⅱ:精细胞Ⅱ期。 2.5.3 尾部 精子的尾部即鞭毛。鞭毛细长,由前向后逐渐变细。鞭毛由轴丝及质膜构成,轴丝由中段的远端中心粒发出,一直贯穿整个尾部,轴丝外包原生质膜(细胞质膜)。从纵切和横切面看,轴丝为典型的"9+2"微管结构,即中心是2个中心微管,周围被9对双联体微管包围(图版Ⅱ:5.6)。

## 3 讨论

塔形马蹄螺精子发生的过程类似于许多软体动物双壳类<sup>[1-3]</sup>和其他腹足类<sup>[4-13]</sup>,精细胞经历了一系列的变化,主要包括顶体的形成、细胞核和线粒体的变化和鞭毛的形成。

3.1 **顶体的形成** 许多腹足类软体动物精子具有顶体<sup>[4:5:7:8:11:13]</sup>,也有些腹足类软体动物精子没有顶体 的形成<sup>[6]</sup>,塔形马蹄螺精子具有顶体(图版 II:2)。在软体动物的许多精子中都观察到高尔基体囊泡融合 形成顶体的现象。其形成过程大同小异,大多是由高尔基体分泌的嗜锇液泡或囊泡(也称为前顶体颗 粒)逐渐融合为前顶体囊,并迁移至核的前端,囊内物质由絮状到均质,密度不断增加;前顶体囊进一步发 育为前顶体,最终演变为不同动物特有的顶体形态<sup>[1:4:5]</sup>。也有研究资料表明,由高尔基体分泌的前顶体 颗粒早在精母细胞质中就已存在<sup>[4-5]</sup>。在太平洋牡蛎(*Crassost rea gigas*)<sup>[2]</sup>等的精母细胞和早期精细胞 质中,还观察到一些形态有别于高尔基体液泡的高电子密度的球形颗粒,它们可在精细胞变态早期集中 融合成前顶体泡,故将这些颗粒也视为前顶体颗粒,顶体的形成依赖于胞质中原有前顶体颗粒的融合与 整合。在塔形马蹄螺精子发生过程各时期中,高尔基体发现较少,在精细胞期也未观察到前顶体囊泡和 大量泡状体的产生,但在细胞质中观察到前顶体颗粒物质的产生。因此,笔者认为塔形马蹄螺精子顶体 的形成不是来自高尔基体,而可能形成于胞质中的前顶体颗粒,这与九孔鲍<sup>[13]</sup>和耳鲍<sup>[11]</sup>精子顶体的形成 相同。

3.2 **核形态及核内染色质的变化** 在塔形马蹄螺精细胞分化过程中,核的体积和形态都发生了较大的 变化,经历了核内染色质逐渐浓缩、核体积逐渐缩小的过程,两者是同时进行的。在精细胞分化过程中, 伴随着染色质的聚集浓缩,塔形马蹄螺精细胞核的形态也发生相应的变化,核由椭圆形变为卵圆型,再逐 渐延长,最后变成与细胞长轴一致的长圆柱状,并出现明显的核内凹陷;染色质浓缩,细胞核成为电子密 度较高的匀质物质,使核体积缩小,这与九孔鲍<sup>[13]</sup>和耳鲍<sup>[11]</sup>精细胞核的变化类似。染色质的浓缩和核体 积的缩小,使精子的体积大大变小,这既有利于保存遗传物质,也能增强精子的运动能力,从而保证受精 作用的完成。

3.3 **线粒体的变化** 线粒体是精子能量的供应中心场所。随着精子的发生、精细胞的变态,其数量和体积也发生了一定的变化。总的来说,线粒体经历了数量由少到多、又到少,体积由小到大的变化过程,并在一定时期汇集于核后方并融合。本研究结果表明,在精原细胞时期,塔形马蹄螺的线粒体数目较少,散布于胞质中,嵴稀少而短;到初级精母细胞时期,线粒体数量明显增多,嵴也加长增多;至次级精母细胞时,线粒体逐渐移向细胞一端,并开始出现融合,体积由小到大,嵴较密集,基质密度也高;进入精细胞时期,线粒体聚集于核后进一步融合为有限的几个,体积明显增大,嵴更密集,至变态后期,线粒体呈饱满状,嵴相当发达。线粒体的变化说明了能量的积累过程和细胞各阶段生命活动的需要<sup>[5-6]</sup>。精母细胞时期线粒体的增多与细胞的进一步分化有关。精细胞分化成精子、线粒体体积增大和嵴数目增多表明精子在成熟过程中逐步积累了能量,以便为受精做准备。线粒体的这种变化规律也存在于其他腹足类软体动物的精子发生过程中,如九孔鲍<sup>[13]</sup>、耳鲍<sup>[11]</sup>、台湾东风螺<sup>[4]</sup>、泥螺<sup>[5]</sup>、中国圆田螺<sup>[6]</sup>等。

3.4 关于精细胞分化过程的分期 关于软体动物精细胞分化过程的分期,不同学者根据所观察的结果 有各自不同的分期方法,有根据顶体的演变特点将精细胞分化过程分为早、中、后3期<sup>[17]</sup>;也有综合考虑 顶体的演化、核及染色质的变化、线粒体的变化等特点,将精细胞分化过程分为5期<sup>[18]</sup>;还有在5期的基 础上,根据观察结果将精细胞分化过程分为6期<sup>[4.6]</sup>。笔者主要根据塔形马蹄螺精细胞在变态期间胞质 与胞器的发育特征、核染色质凝集程度及形态等的变化,将其分为5个时期。这与九孔鲍精细胞分化过 程的分期<sup>[13]</sup>是相同的。

## 参考文献:

[1] 饶小珍,陈寅山,陈文列,等. 西施舌精子发生过程的超微结构观察[J]. 水产学报,2002,26 (2):97-103.

- [2] 任素莲,王德秀,绳秀珍,等.太平洋牡蛎精子形成的研究[J].青岛海洋大学学报,2001,31 (4):501-505.
- [3] 沈亦平,张锡元. 合浦珠母贝精子发生过程的超微结构观察[J]. 武汉大学学报:自然科学版,1993,(6):123-129.

- [4] 柯才焕,李复雪. 台湾东风螺精子发生和精子形态的超微结构研究[J]. 动物学报,1992,38 (3):233 238.
- [5] 应雪萍,姜乃澄,杨万喜. 泥螺精子发生的超微结构研究[J]. 动物学研究,2002,23 (5):400 404.
- [6] 严云志,谈奇坤,陈士超,等. 中国圆田螺典型精子及其发生的超微结构研究[J]. 水生生物学报,2004,28 (1):45-51.
- [7] 郑曙明,吴青. 大瓶螺精子发生的超微结构研究[J]. 西南师范大学学报:自然科学版,2000,25(6);700-703.
- [8] 包振民,胡景杰,姜明,等. 皱纹盘鲍精子的超微结构[J]. 青岛海洋大学学报,1998,28(2):283-287.
- [9] 崔龙波,周雪莹,陆瑶华. 皱纹盘鲍精巢及精子结构的研究[J]. 烟台大学学报:自然科学与工程版,2000,13 (2): 103-107.
- [10] 柯才焕,周时强,田越,等. 三种鲍精子超微结构的比较[J]. 海洋学报,2003,25 (3):138-142.
- [11] 黄勃,邓中日,王小兵. 我国海域耳鲍(Haliotis asinisna) 精子发生的超微结构研究[J]. 海洋与湖沼,2006,37(5): 401-405.
- [12] 黄勃,邓中日,王小兵,等.耳鲍精子的超微结构[J].动物学报,2007,53(3):552-556.
- [13] 颜素芬,姜永华,严正凛,等. 九孔鲍精子发生的超微结构[J]. 中国水产科学,2006,13(6);878-884.
- [14] 张春芳, 刘永, 梁飞龙, 等. 塔形马蹄螺人工促熟及催产的研究[J]. 海洋科学, 2008, 32(5): 6-8.
- [15] 李芳远, 冯永勤, 吴洪流, 等. 塔形马蹄螺雄性生殖系统的组织学研究[J]. 海南大学学报:自然科学版, 2008, 26(2): 153-156.
- [16] 吴洪流,李芳远,冯永勤,等. 塔形马蹄螺雌性生殖系统的显微结构研究[J]. 海南大学学报:自然科学版,2008,26 (3):249-252.
- [17] AZEVEDO C. The fine structure of the spermatozoon of Patella lusitanica (Gastropda: Prosobranchia) with spe2 cial reference to asrosome formation [J]. J Submicrosc Cytol, 1981, 13 (1):47-56.
- [18] JARAMILLO R. Ult rastuctural analysis of spermatogenesis and spermmorphology in Chorus giganteus (Prosobranchia : Muricidae) [J]. Veliger, 1986, 29 (2):217-225.

## Ultra-structure Study on Spermatogenesis of Trochus pyramis Born

WU Hong-liu, PU Li-yun, FENG Yong-qin, DONG Yang, LIU Lu, YAN Jun-xian (College of Marine Sciences, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: Transmission electron microscopy was used to observe the ultra-structure of spermatid of *Trochus pyramis* Born at different stages. The results indicated that the spermatogenesis of *Trochus pyramis* Born included following five stages: spermatogonium, primary spermatocyte, secondary spermatocyte, spermatid and spermatozoon. The shape of spermatogonium was ellipsoidal and there were few mitochondria, the distribution of chromatin uniform; the shape of primary spermatocyt was much bigger, the chromatin agglomerated as pieces and there were more mitochondria, and some mitochondria fused and taken on cisterna shape. Spermiogenesis could be divided into five stages, the characteristics of the first stage: electron dense granules participated in the formation of acrosome; that of the second stage: the nucleus presented ellipsoidal shape or spherical shape, and become long cylinder gradually; that of the third stage: the chromatin agglomerated as larger pieces; that of the fourth stage: the mitochondria fused gradually, the volume improved and cristae developed; that of the fifth stage: centrosome moved and flagellar formed, the chromatin agglomerated further and become higher electron-density homegeneous, cytoplasm diminished. Mature spermatozon was primitive type and composed of head, middle piece and tail.

Key words: Trochus pyramis Born; spermatogenesis; ultra-structure