

# 鱼类的受精

张天荫

(山东大学生物学系)

关于动物的受精，特别是海胆和哺乳类已有大量文献和专著问世，但对鱼类却知之甚少。自1979年以来从亚显微结构方面对几种鱼类受精过程作了报道，在此作一综合介绍。

## (一) 精子

硬骨鱼类的精子没有顶体，但圆口纲的七鳃鳗，板鳃纲的鲨鱼 (*Squalus suckleyi*) 和鲟

形目的鲟鱼的精子则有顶体。

现以鲫鱼 (*Carassius auratus*) 精子为例说明精子的构造。精子的头部呈椭圆形，直径为  $2\mu\text{m}$ ，核为椭圆形，长轴为  $2\mu\text{m}$ ，短轴为  $1.5\mu\text{m}$ ，核前无顶体，核的后端有一深窝，称为核隐窝。核为一致密的染色质，内有几个小孔。

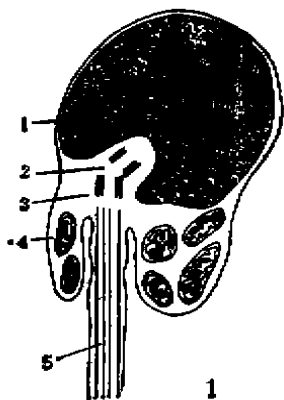


图1 鲫鱼精子矢状切面  
1.核; 2.近侧中心粒; 3.远侧中心粒;  
4.线粒体; 5.轴丝 (引自 Bascetti 等  
1984)

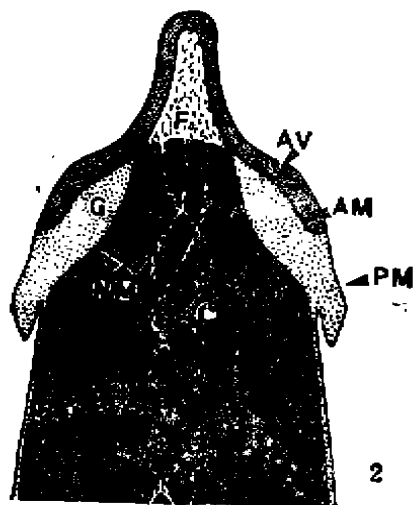


图2 白鲟鱼精子顶体的图解。AV. 顶体囊;  
AM. 顶体膜; PM. 质膜; F. 顶体下腔和小管  
中的丝状物质; G. 顶体下腔侧缘的颗粒物质;  
NM. 核膜; C.小管 (引自 Cherr 和 Clark,  
1984)

核隐窝内有二个中心粒：近侧中心粒和远侧中心粒，两者不在同一方位，约呈  $125^\circ$ 。颈部约有十个线粒体，不对称分布，彼此不发生融合，呈半月状横向包在轴丝四周（图 1）。尾长  $58 \mu\text{m}$ ，尾部主轴为  $9+2$  型的轴丝，后者是由远侧中心粒形成的基粒发生的。由于远侧中心粒位于核隐窝的一侧，因此精子的尾部不是从头部的正中向后伸出，而偏向一边。鲤形目中其它科中的精子有两条鞭毛或没有鞭毛，有的轴丝为  $9+0$  型。不同科的精子尾部长度不一，为  $36-60 \mu\text{m}$  (Baccetti 等 1984)。

白鲟鱼 (*Acipenser transmontanus*) 精子头部长  $7 \mu\text{m}$ ，由核和顶体组成，头的前端较后端略窄。核的后端有一明显的核隐窝，内有近侧中心粒和远侧中心粒。中段有许多线粒体，它们包在鞭毛四周形成一个长约  $1 \mu\text{m}$  的领状结构。轴丝亦为  $9+2$  型。精子的顶体呈钟状扣在精子的顶部，长约  $1 \mu\text{m}$ ，厚约  $0.2 \mu\text{m}$ ，顶体下腔内为肌动蛋白物质，中央呈细丝状，两侧呈颗粒状，向后通入核内三个直径为  $40\text{nm}$  螺旋状盘曲的小管，直达核的后端（图 2）(Cherr 和 Clark, 1984)。可由含有离子载体  $A_{23187}$  的淡水， $\text{pH}8.5-9.0$ ，高浓度  $\text{Ca}^{2+}$  ( $30\text{mM}$ ) 或卵水诱发其顶体反应。现已证明诱发顶体反应的卵水是由卵壳膜中第三层的糖蛋白（分子量为  $66,000$ ）所引起，并具有种特异性，如有胰酶抑制剂可抑制诱发顶体反应 (Cherr 和 Clark, 1985)。

## (二) 卵子

硬骨鱼的卵子绝大部分为圆形，卵外有一坚韧的卵膜，称为壳膜(chorion)。卵的细胞质主要分布于卵的皮层周围和核的附近，只有少量的细胞质分散于卵黄颗粒间的空隙中。卵内有大量卵黄。

关于卵外卵膜的名称，在文献中曾采用过很多名词：放射带 (*Zona radiata*)、透明带 (*Zona pellucida*)，卵黄被膜 (*Vitelline envelope*) 和壳膜 (*Chorion*) 等，很不统一。本文将排出的成熟卵外的卵膜称为壳膜，在卵子发生过程中卵外的卵膜称为卵黄被膜。

壳膜的结构十分复杂，由两部分组成：壳膜和卵膜孔。壳膜是由糖蛋白组成的纤维状物质，呈片层状排列，但由于其致密度和排列方向不同，所以可分为很多层次。在有些鱼类壳膜外表还有一些特殊的附属结构，如细丝、刺、线等，其作用是使卵能附着于水中的物体上。阔尾鲮鱼 (*Oryzias latipes*) 刚受精卵的壳膜，厚  $12-15 \mu\text{m}$ ，分为三层：外层为绒毛状的电子透明层，它的表面有许多细丝；中层为匀质的电子致密层；内层为  $10-12$  层水平排列的电子致密纤维层，它们之间由电子较不致密的片层相间隔 (Hart 等, 1984)。赤鲮鱼 (*Fundulus heteroclitus*) 的卵黄被膜也是由致密或不太致密的纤维层间隔组成，共有九层。当产卵时，组成壳膜的纤维层变得更为紧密，分层也变得不明显。在壳膜外还覆盖一层薄的致密纤维层，这就是胶质纤维层，同阔尾鲮鱼壳膜的外层一样起着使卵附着于物体的作用 (Dumont 和 Brummet, 1980)。此外，壳膜表面有大量的孔小管 (pore canals) 开口，这些孔小管是卵母细胞和滤泡细胞各自伸出的微绒毛在卵黄被膜中的通道所形成。当卵子成熟排出时，这些孔小管失去其管状结构，对外开口亦被封闭。

卵膜孔通常呈漏斗状，其开口部分称为前庭 (Vestibule)，管状部分称为精孔管 (micro-pylar canal) (图 3)。在前庭四周边缘有许多突起，不同鱼类的形状不一。精孔管的外孔与前庭相通，内孔则靠近卵的胚盘。精孔管的孔径上粗下细，例如赤鲮鱼精孔管外孔的直径为  $2.5-3 \mu\text{m}$ ，内孔的直径为  $1-1.5 \mu\text{m}$ ，斑马鱼 (*Brachydanio rerio*) 的外孔直径为  $7.5-8.5 \mu\text{m}$ ，内孔为  $2.3 \mu\text{m}$ 。一般内孔的孔径略大于该种精子头部的直径，所以只允许一个精子进入 (Hart 和 Donovan, 1983; 王瑞霞等, 1982, 1984)。但鲤鱼 (*Cyprinus carpio*) 精孔管内孔直径为  $5 \mu\text{m}$ ，比它的精子头部直径  $2.4 \mu\text{m}$  大多，可允许二个精子进入 (Kudo, 1980)。

关于壳膜的来源问题，Tesoriero (1978) 认为阔尾鲮鱼的壳膜是由卵母细胞形成，先由卵母细胞内合成壳膜的前体物，然后在高尔基体

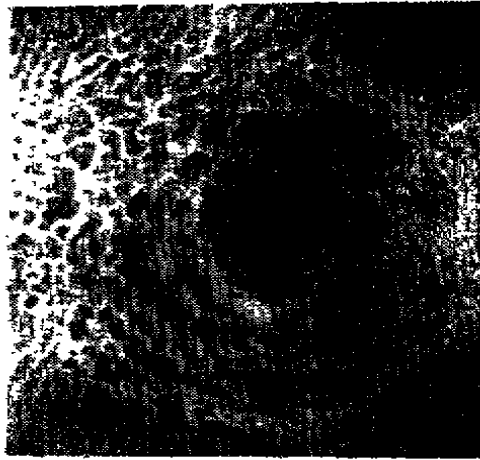


图3 鲑鱼 (*Cirrhinus molitorella*) 卵膜孔的扫描图。指针示卵膜孔的前庭; 针头指卵膜孔。表面许多小孔为孔小管(引自曲焱熹等, 1981)

中合成为蛋白质—多糖物质, 形成表面光滑内部致密的小囊。这些小囊从高尔基体迁移到质膜处, 通过胞吐作用释放到卵母细胞和滤泡细胞之间, 形成了卵黄被膜, 卵产出后就是卵的壳膜。根据 Dumont 和 Brument(1980) 在赤鲱鱼以及 Hart 等(1984)在阔尾鲱鱼则认为壳膜是由卵母细胞和滤泡细胞共同组成。我国鲑鱼的壳膜也是由两者共同组成(王瑞霞等, 1982)。

卵膜孔是在卵母细胞发育过程中形成的。它是由卵外一个体积巨大、并有一很长的细胞突起的滤泡细胞所形成, 这个细胞称为精孔细胞 (micropylar cell) (图4)。当卵黄被膜在形成时, 精孔细胞就在该处形成一个凹陷, 随卵母细胞的增大, 卵黄被膜加厚的同时, 此凹陷加深成为漏斗状, 它就是卵膜孔的前庭部分。而精孔细胞的突起从漏斗状的底部通过卵黄被膜直达卵母细胞表面, 与卵母细胞之间有中间连接和桥粒样连接相联系, 这突起就成为卵膜孔的精孔管。当生发泡即将破裂时, 精孔细胞的突起逐渐缩短, 最后从精孔管中缩回去, 这样与卵母细胞就失去联系。排卵时, 精孔细胞与滤泡细胞一起脱离卵的表面, 分解消失。这样, 精孔细胞的位置就成为卵膜孔的前庭, 精孔细胞的突起处就成为卵膜孔下的精孔管(Kobayashi 和 Yamamoto, 1985)。

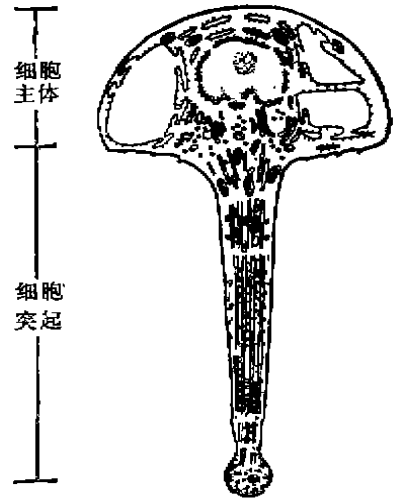


图4 大马哈鱼 I 期滤泡精孔细胞的图解 (引自 Kobayashi 和 Yamamoto, 1985)

### (三) 受精

绝大多数鱼类为体外受精。精卵在水中保持受精的时间很短, 精子一般在几十秒内就失去受精能力, 卵子通常在 1—2 分到十几分即失去受精能力。

缺乏顶体的硬骨鱼精子, 在受精前不必由卵诱发其活动, 主要在排精时由于外界溶液使精液稀释而促使其活动。由于这类精子通过卵膜孔就可直接与卵的质膜相遇, 所以不须具备排出酶类物质的顶体。有些学者认为有些鱼类, 如鱈属中的 *Acheilognathus lanceolatus* 和 *A. sabira*, 鲟鱼 (*Rhocoecus ocellatus*), 鳊鱼 (*Sarcocheilichthys variegatus*) 卵膜孔地区有一种物质能增强精子的活动, 这种物质可能是一种小肽, 并且没有种特异性(Yamamoto, 1961); 也有认为卵膜孔处能释放一种物质吸引精子 (Yamamoto, 1961; Laale, 1980)。

当精子经精孔管到达卵动物极表面, 与该处一束微绒毛(如鲤鱼和斑马鱼)(Kudo, 1980; Kudo 和 Sato, 1985; Hart 和 Donovan, 1983; Wolenski 和 Hart, 1987), 或不同形状的突起(如赤鲱鱼和大马哈鱼 *Oncorhynchus keta*) (Brummet 和 Dumont, 1979; Kobayashi 和 Yamamoto, 1987), 或缺乏任何特异形态结构的质膜(如阔尾鲱鱼) (Iwamatsu 和

Ohta, 1981) 相附着和结合, 随即发生融合。不论那种情况, 当精子与卵质膜结合和融合时由于卵细胞质的收缩活动, 在该处都要形成不同形状的细胞质突起—受精锥 (fertilization cone), 如同海胆卵受精一样。如鲑鱼的受精锥长  $10\mu\text{m}$ , 阔  $3-4\mu\text{m}$ , 形似锥状, 把精孔管的内孔阻塞; 也有形如乳头状位于内孔之中。随精子进入卵内, 受精锥逐渐消失。现已证实精子进入卵内是由于卵内有肌动蛋白的细丝 (filament) 作用的结果 (Wolenski 和 Hart, 1988)。激动的大马哈鱼卵则不形成受精锥 (Kobayashi 和 Yamamoto, 1987)。精子进入卵内后精核核膜很快消失, 核质发生去致密, 并在其四周形成长或扁平的小囊, 约于授精后 15 分就形成了雄性原核。

约于授精后 15—30 分, 约离精子穿入处  $50-100\mu\text{m}$  处卵的表面有一厚的叶片状突起集合体, 此即第二极体排出处。在此突起的基部形成一分裂沟, 随即排出第二极体 (Wolenski 和 Hart, 1987)。

鱼类精子是否象哺乳类 (Yanagimachi 和 Noda, 1970) 那样, 限于精子头部赤道段与卵的质膜发生融合, 目前还不太清楚。但 Kessel 等 (1983) 确已在斑马鱼精子头部赤道段发现该段质膜中排列有许多大的膜间颗粒, 它是否表示了精子的受体部位, 尚待验证。

在精卵质膜发生融合后, 皮层小泡很快就排出其内含物, 它首先发生于精子入卵的附近, 然后以波状方式向卵的四周扩展, 这就是皮层反应。这过程必须有  $\text{Ca}^{2+}$  的存在。斑马鱼的皮层反应是在授精后 30 秒开始, 1—3 分为顶盛时期, 5—6 分反应完成 (Hart 和 Yu, 1980)。当然, 各种鱼类皮层反应完成的时间是不同的。由于皮层小泡内含物为酸性粘多糖, 分子量很大, 不能通过壳膜, 导致卵周隙渗透压增大, 使外界的溶液流入, 卵周隙的静水压增加, 最终使壳膜与卵分开。与此同时, 壳膜失去弹性, 变得硬韧, 这就是壳膜的硬化。如果抑制皮层小泡破裂, 受精和胚胎发育仍能正常进行 (Gilkey, 1981)。此外, 皮层小泡释放的物质具有使精

子凝集的作用 (Kudo 和 Sato, 1985)。

鱼类阻止多精受精的机制主要是由于精孔管的内孔直径只允许一个精子进入, 目前仅知鲤鱼精孔管可允许二个精子同时进入, 但也只发生单精受精; Kudo 和 Sato (1985) 认为可能由于: 位于精孔管下这部分卵的表面存在一种特异结构; 较早形成的受精锥具有拒绝多余精子的能力, 并把它们推向精孔管; 皮层小泡释放的物质能凝集精子。最近 Kobayashi 和 Yamamoto (1987) 证明大马哈鱼受精卵卵周隙的物质通过精孔管喷出而把多余的精子从精孔管中被排出。

如果将受精卵的壳膜去掉, 再以授精, 则此受精卵仍可再受精, 表明受精卵表面任何部分的质膜均可与精子发生融合, 这在鲱鱼 (*Clupea pallasii*) (Yanagimachi, 1957), 阔尾鳕鱼 (Sakai, 1961; Iwamatsu 和 Ohta, 1978), 金鱼 (曲漱蕙等, 1964), 鲟鱼 (Ohta, 1985) 都已得到了证实。这些精子核都可发育为雄性原核, 形成星光, 导致卵裂异常。如去掉激动卵的壳膜给以授精, 精子核同样可形成雄性原核, 并可与雌性原核结合形成正常的卵裂 (曲漱蕙等, 1964)。

## 参 考 文 献

- [1] 王瑞霞等 1982 鲈鱼受精早期精子入卵的扫描电子显微镜观察 水产学报(6): 313—320
- [2] 王瑞霞等 1984 家养鱼类受精生物学的研究。II 几种淡水鱼类成熟卵球的精孔器与精子入卵通路的光镜与扫描电镜观察。水生生物集刊(8): 171—182
- [3] 曲漱蕙等 1964 金鱼卵的再受精及其时限 实验生物学报(9): 130—144
- [4] 曲漱蕙等 1981 鲟鱼受精卵的卵膜和皮层变化的电镜观察 中国鱼类学会 1981 年学术年会论文摘要汇编 (成都) 72—73
- [5] Baccetti, B. et al. 1984 Fish germinal cells I. Comparative spermatology of seven Cyprinid species. *Gamete Res.* 10: 373—396
- [6] Brummet, A. R. et al. 1979 Initial stages of sperm penetration into the egg of *Fundulus heteroclitus*. *J. Exp. Zool.* 210: 417—434
- [7] Cherr, G. et al. 1984 An acrosome reaction in sperm from the white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *J. Exp. Zool.* 232: 129—139
- [8] Cherr, G. et al. 1985 An egg envelop component induces the acrosome reaction in sturgeon sperm. *J. Exp. Zool.* 234: 75—85

- [9] Dumont, J. N. et al. 1980 The vitelline envelope, chorion and micropyle of *Fundulus heteroclitus* eggs. *Gamete Res.* 3: 25—44
- [10] Gilkey, J. C. 1981 Mechanisms of fertilization in fishes. *Am. Zool.* 21: 359—375
- [11] Hart, N. H. et al. 1980 Cortical granule exocytosis and cell surface reorganization in eggs of *Brachydanio*. *J. Exp. Zool.* 213: 137—157
- [12] Hart, N. H. et al. 1983 Fine structure of the chorion and site of sperm entry in the egg of *Brachydanio*. *J. Exp. Zool.* 227: 277—296
- [13] Hart, N. H. et al. 1984 The structure of the chorion and associated surface filaments in *Oryzias*—Evidence for the presence of extracellular tubules. *J. Exp. Zool.* 230: 273—296
- [14] Iwamatsu, T. et al. 1978 Electron microscopic observations on sperm penetration and pronuclear formation in the fish egg. *J. Exp. Zool.* 205: 157—180
- [15] Iwamatsu, T. et al. 1981 Scanning electron microscopic observation on sperm penetration in teleostean fish. *J. Exp. Zool.* 218: 261—277
- [16] Kessel, R. et al. 1983 Unusual particle arrays in the plasma membrane of zebrafish spermatozoa. *J. Ultrastruct. Res.* 84: 268—274
- [17] Kobayashi, W. et al. 1985 Fine structure of the micropylar cell and its change during oocyte maturation in the chum salmon, *Oncorhynchus keta*. *J. Morph.* 184: 263—276
- [18] Kobayashi, W. et al. 1987 Light and electron microscopic observations of sperm entry in the chum salmon egg. *J. Exp. Zool.* 243: 311—322
- [19] Kudo, S. 1980 Sperm penetration and the formation of a fertilization cone in the common carp egg. *Dev. Growth Diff.* 24: 163—170
- [20] Kudo, S. et al. 1985 Fertilization cone of carp eggs as revealed by scanning electron microscopy. *Dev. Growth Diff.* 27: 121—128
- [21] Laale, H. 1980 The perivitelline space and egg envelopes of bony fishes: A review. *Copeia* 2: 210—226
- [22] Ohta, T. 1985 Electron microscopic observations on sperm entry and pronuclear formation in naked eggs of the rose bitterling in polyspermic fertilization. *J. Exp. Zool.* 234: 273—281
- [23] Sakai, Y. T. 1961 Method for removal of chorion and fertilization of the naked egg in *Oryzias latipes*. *Embryologia* 5: 357—368
- [24] Tesoriero, J. V. 1978 Formation of the chorion (zona pellucida) in the teleost, *Oryzias latipes*. Autoradiography of [<sup>3</sup>H] proline incorporation. *J. Ultrastruct. Res.* 64: 315—326
- [25] Wolenski, J. S. et al. 1987 Scanning electron microscope studies of sperm incorporation into the zebrafish (*Brachydanio*) egg. *J. Exp. Zool.* 243: 259—273
- [26] Wolenski, J. S. et al. 1988 Effects of cytochalasin B and on the fertilization of zebrafish (*Brachydanio*) eggs. *J. Exp. Zool.* 246(2): 202—215
- [27] Yamamoto, T. 1961 Physiology of fertilization in fish eggs. *Inter. Rev. Cytol.* 12: 361—405
- [28] Yanagimachi, R. 1957 Studies of Fertilization in *Clupea pallasii* Yl. Fertilization of the egg deprived of the membrane. *Jap. J. Ichthy.* 6: 41—47
- [29] Yanagimachi, R. et al. 1970 Electron microscope studies of sperm incorporation into the golden hamster egg. *Am. J. Anat.* 128: 429—462

## 《脊椎动物学实验指导》简介

《脊椎动物学实验指导》孙福英主编，华东师范大学出版社出版，定价 2.20 元。

1984年中国动物学会在南京举行庆祝学会成立五十年纪念学术会议，会议期间广大会员深感动物学教学需要改革，以适应我国社会发展和经济建设的需要。在会员的建议下，理事会决定组织成立“动物学教学研讨委员会”，专门研讨动物学教学问题。这一动议也获得了国家教委的支持。

1984年举行第一次研讨会，在此以前华东地区六所高校的动物学教学座谈会上，与会者一致认为实验课是动物学教学中的一个重要环

节，不仅需要加强，而且需要有关的实验指导。本书作者在实践中曾进行过探索，有丰富的教学和科研经验，会议促使他们集体编写并出版了这一本实验指导。

指导以动物学教学大纲为依据，安排了 22 个实验，取材尽量采用国内易得的常见动物为代表；以使学习及实验过程中，增加理解和动手的能力，始终贯彻解剖操作技术和观察方法的指导。前 18 个实验以实验室为主，主要是形态解剖，后 6 个实验则以野外观察为主。野外观察以识别种类以及动物与环境的关系，所以内

(下转第 55 页)