

黄颡鱼受精早期精子入卵扫描电镜观察

尹洪滨^① 孙中武^② 姚道霞^② 孙德志^③ 潘伟志^① 薛淑群^①

(^①中国水产科学研究院黑龙江水产研究所 哈尔滨 150070; ^②东北林业大学生命科学学院 哈尔滨 150040;

^③黑龙江省肇东市东发渔业有限公司 肇东 151121)

摘要:用扫描电镜对黄颡鱼(*Pseudobagrus fulvidraco*)成熟精、卵及受精早期精子入卵过程进行了观察。成熟精子为鞭毛型形态,全长为 11.2 ~ 12.4 μm ,头部直径 1.1 ~ 1.3 μm ,鞭毛长 10.0 ~ 11.3 μm 。成熟的黄颡鱼卵呈圆形,具单一受精孔,卵膜上以受精孔为中心分布有无数辐射状沟嵴。授精前,受精孔暴露在外面,授精 2 s 时,受精孔被纤维状物质覆盖,之后大量精子很快黏附在覆盖物上;至授精 10 s,漏斗状受精孔又暴露出来。黄颡鱼在授精 10 s ~ 1 min 内完成精子入卵过程,可观察到几乎所有样品的精孔区出现一圈环状隆起。大量精子处于隆起外侧,只有少数越过隆起到达受精孔前庭。授精 1.5 min,精孔区的隆起变成两圈,精子鞭毛解体。授精 3 min,可见迟到的精子被挡在外面。授精 5 min,精孔区的精子头部解体,受精孔几乎被分泌物覆盖,受精塞清晰可见。至授精 20 min,精子几乎全部解体。讨论了精子入卵的动力作用、精卵识别和单精受精机制。

关键词:黄颡鱼,精子,卵,受精,扫描电镜

中图分类号:Q954, Q492 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2007)04-95-06

Scanning Electron Microscopic Observation on the Sperm Penetration into Eggs in *Pseudobagrus fulvidraco*

YIN Hong-Bin^① SUN Zhong-Wu^② YAO Dao-Xia^② SUN De-Zhi^③ PAN Wei-Zhi^① XUE Shu-Qun^①

(^① Heilongjiang River Fisheries Research Institute, CAFS, Harbin 150070;

^② College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040;

^③ Dongfa Fishery Corporation, City of Zhaodong, Heilongjiang Province, Zhaodong 151121, China)

Abstract: The mature eggs, spermatozoa and fertilization process were observed by scanning electron microscopy in *Pseudobagrus fulvidraco*. The spermatozoa consist of two parts, the head and the tail. The total length of the spermatozoa is 11.2 to 12.4 μm . The diameter of sperm head is 1.1 to 1.3 μm and the length of the tail is 10.0 to 11.3 μm . The mature eggs of *P. fulvidraco* are elliptical and have a single micropyle on the animal pole, from which there are many fossae and ridges radiating from the egg surface. The micropyle is exposed before insemination and covered with fibroid slipcover at 2 s after insemination. Soon after that, numerous spermatozoa adhere on it. The fibroid slipcover disappears and the micropyle is exposed at 10 s. The process of sperm penetration into eggs is carried out between 10 s and 1 min and a circle of annular apophysis encircles the micropyle on the egg membrane. Only few spermatozoa can go through the apophysis and reach the vestibule of micropyle. The tail of spermatozoa around the micropylar is disorganized at 1.5 min after insemination and the head is disrupted at 5 min. During this period, the annular apophysis disappears soon after two circles form and fertilization plugs appear, resulting in the block of sperm penetration. Almost all of the spermatozoa on the micropylar region are dissolved in 20 min. In this

基金项目 黑龙江省科技厅资助项目(No. GZ03B109);

第一作者介绍 尹洪滨,女,研究员,研究方向:鱼类细胞生物学, E-mail: hongbinyins@yahoo.com.cn.

收稿日期 2006-12-15, 修回日期 2007-05-15

体,无法看清精子形态,球形受精塞清晰可见(图版Ⅱ:5)。持续到授精20 min,精子几乎全部解体(图版Ⅱ:6)。

3 讨论

3.1 精子入卵的动力作用 硬骨鱼类的受精是精子穿过卵膜上的受精孔与卵的质膜发生融合而完成两性配子结合的^[4],因此硬骨鱼类的受精与受精孔的特殊结构密不可分。脂鲤(*Astyanax bimaculatuslacustris*)卵的动物极精孔区存在若干指向受精孔的沟嵴,该结构可能与吸引精子入卵有关^[5]。怀头鲂(*Silurus soldatovi*)成熟卵的动物极也有类似的辐射嵴,该辐射嵴间组成的扇形区域具有空间和方位的引导作用,可使精子以最佳路径和均等机会聚集到受精孔区,起加速受精的作用^[6]。而泥鳅(*Misgurnus anguillicandatu*)的受精孔呈现有规则的涡旋状凹陷,涡旋的流线呈逆时针方向,受精孔外成群的精子顺着涡旋状结构被卷入受精孔^[7]。黄颡鱼卵膜上以受精孔为中心分布有大量辐射状沟嵴,该结构与脂鲤和怀头鲂的辐射嵴类似,其促进精子快速到达受精孔的作用应当是相同的。鱼类卵子受精孔区不论是辐射状沟嵴结构,还是涡旋状凹陷结构,都为精子快速滑向受精孔提供了物理学动能。诸多研究表明,在鱼类受精过程中,精子入卵具有趋化性,由受精孔释放出来的化学物质对精子游向受精孔具有吸引作用^[8]。这又为精子快速滑向受精孔提供了化学动能。这两个方面的共同作用为精子快速到达受精孔,进而完成授精作用提供了重要保障。

3.2 精卵识别 关于鱼类的精卵识别,早在1961年,Yamamoto研究高体鲮鱼(*Rhodeus ocellatus*)时就指出,受精孔能释放小分子肽物质,以增强精子活力,吸引精子进入^[8]。白鲟(*Psephurus gladius*)精子入卵前,受精孔四周有细胞质突起或絮状物,推测该物质可能刺激受精^[9]。黑鲟(*Sparus macrocephalus*)的精子入卵前、后精孔区先后出现了两种作用相反的絮状物,前一种絮状物遇水溶解、遇药凝固为絮状,

具有激活精子和诱导精子入卵的功能^[10]。黄颡鱼卵的受精孔在授精前暴露在外面,授精后被纤维状物质覆盖,之后大量精子黏附到覆盖物上,至授精10 s,纤维状覆盖物消失,漏斗状受精孔又暴露出来,精子开始由精孔器进入卵内。此结果与杂交鲂(*S. soldatovi* ♀ × *S. asotus* ♂)的精子入卵情况类似^[11]。该纤维状覆盖物能与精子相互识别,引导精子靠近。待精子黏附到上面时,便可分泌某种化学物质溶解覆盖物,使精子顺利通过精孔器进入卵内。

3.3 单精受精 硬骨鱼类多数为单精受精,因为精子和卵在结构及功能上具有一定调控作用,以保证多余精子不能进入卵内。黄颡鱼卵只有一个受精孔,精孔管直径为1.3~1.4 μm,而黄颡鱼精子头部直径为1.1~1.3 μm,精孔管每次只能允许一个精子通过,这样,精孔管成为阻止多精入卵的第一道屏障。黄颡鱼受精孔暴露出来后,精孔区出现环状隆起,仅有少数精子越过隆起到达受精孔前庭,大量精子滞留在环状隆起外侧。由此可见,该隆起起到一个缓冲屏障作用:当大量精子涌向精孔器时,环状隆起给精子一个减速和缓冲,只允许少数活力高的精子越过环状隆起进入精孔器,而大多数活力相对较弱的精子无法越过,从而保证受精的质量。此外,受精塞的形成也可阻止多精入卵。泥鳅精子入卵时出现无定形或球形受精塞,迟到的精子被堵在外面。被堵在外面的精子逐渐解体,失去受精能力^[12]。而索氏六须鲂(*S. soldatovi*)第1个精子进入卵后,精孔管内立即被丝絮状受精塞堵塞,精孔管靠近受精塞的对称两侧向外突出,阻挡其他精子进入,从而实现单精受精^[13]。黄颡鱼精子解体时,未见有受精塞的形成,也无明显的精孔管形变,只看到环状隆起变成两圈,之后隆起消失。黄颡鱼受精塞的形成在时间上明显滞后于精子解体,这与上述研究结果有显著不同。由此认为,黄颡鱼单精受精的机制主要为:精子通过受精孔进入卵时,刺激卵子,使精孔区的微细结构发生一系列变化,致使多余精子不能识别入卵位点,之后,多余精子解体,确保黄颡鱼单精受精的进行。

而受精塞的形成则是黄颡鱼阻止多精入卵的一个辅助屏障。

参 考 文 献

[1] 王所安. 河北动物志 鱼类. 石家庄: 河北科学技术出版社, 2000, 181 ~ 182.

[2] 刘利平, 王武, 赵雷蕾等. 江黄颡鱼精子的超微结构. 上海水产大学学报, 2004, 13(3): 198 ~ 202.

[3] 尤永隆, 林丹军. 黄颡鱼精子的超微结构. 实验生物学报, 1996, 29(3): 235 ~ 245.

[4] 刘雪珠, 杨万喜. 硬骨鱼类受精细胞学研究进展. 东海海洋, 2002, 20(1): 36 ~ 41.

[5] Rizzo E, Sato Y, Barreto B P, et al. Adhesiveness and surface patterns of eggs in neotropical freshwater teleosts. *Journal of Fish Biology*, 2002, 61: 615 ~ 632.

[6] 刘伟, 陈军, 潘伟志等. 怀头鲂成熟卵膜表面扫描电镜观察. 动物学报, 2005, 51(5): 940 ~ 946.

[7] 沈其璋, 吴坤明, 蔡振岩. 泥鳅精子入卵的动力作用. 动物学研究, 1990, 11(3): 179 ~ 183.

[8] Yamamoto T. Physiology of fertilization in fish egg. *Inter Reuycytol*, 1961, 12: 361 ~ 405.

[9] Linhart O, Kudo S. Surface ultrastructure of paddlefish egg before and after fertilization. *Journal of Fish Biology*, 1997, 51(3): 573 ~ 582.

[10] 张筱兰, 丛娇日, 姚斐等. 黑鲷 (*Sparus macrocephalus*) 成熟精、卵和精子入卵早期过程的初步观察. 海洋湖沼通报, 1998, (4): 62 ~ 67.

[11] 陈军, 刘伟, 赵春刚等. 杂交鲢精子入卵扫描电镜观察. 吉林农业大学学报, 2004, 26(3): 343 ~ 346.

[12] 高令秋, 高书堂, 岳朝霞等. 泥鳅精子入卵程序的扫描电镜观察. 武汉大学学报(自然科学版), 1995, 41(6): 740 ~ 744.

[13] 尹洪滨, 孙中武, 潘伟志. 索氏六须鲶受精早期精子入卵的扫描电镜观察. 中国水产科学, 2000, 17(2): 1 ~ 4.

图版 I 说明

1. 黄颡鱼成熟卵 × 80; 2. 黄颡鱼成熟卵, 示暴露的精孔器 (Mi) 及辐射状沟嵴 (Fr) × 300; 3. 受精 2 s, 示精孔器上的纤维状覆盖物 (Fs) × 2 000; 4. 受精 3 s, 示被覆盖的精孔器 (Mi) 及辐射状沟嵴 (Fr) × 300; 5. 受精 3 s, 示精孔器上的纤维状覆盖物 (Fs) 及精子 (Sp) × 4 000; 6. 受精 10 s, 示暴露的精孔器 (Mi) 及精孔区的精子 (Sp) × 1 000; 7. 受精 10 s, 示卵膜上的环状隆起 (Aa), 进入前庭的精子 (Spi) 及环状隆起外面的精子 (Spo) × 4 000; 8. 受精 20 s, 示卵膜上的环状隆起 (Aa) 精孔器前庭 (Ve) 及其椭圆形结构 (Es) 精孔管 (Mc) 及正在入卵的精子 (Sp) × 3 000.

图版 II 说明

1. 受精 1 min, 示精子头部 (Sh) 及尾部 (St) × 6 000; 2. 受精 1.5 min, 示卵膜上 2 圈环状隆起 (Aa) 及尾部解体的精子 (Sp) × 3 000; 3. 受精 2 min, 示解体的精子 (Ds) × 2 500; 4. 受精 3 min, 示收缩的精孔管 (Mc) 及被堵在外面的精子 (Sp) × 4 000; 5. 受精 5 min, 示受精塞 (Fp) 及解体的精子 (Ds) × 2 000; 6. 受精后 20 min, 示精孔器 (Mi) 及已解体的精子 (Ds) × 2 000.

Explanation of Plates I

1. An mature egg of *Pseudobagrus fulvidraco* × 80; 2. An mature egg of *Pseudobagrus fulvidraco*, showing the exposed micropyle (Mi) and the fossae and ridges (Fr) × 300; 3. 2 s after insemination, showing the fibroid slipcover (Fs) on micropyle × 2 000; 4. 3 s after insemination, showing the micropyle (Mi) covered with fibroid slipcover and the fossae and ridges (Fr) × 300; 5. 3 s after insemination, showing the fibroid slipcover (Fs) with spermatozoa (Sp) adhering on it × 4 000; 6. 10 s after insemination, showing the exposed micropyle (Mi) and the spermatozoa (Sp) on the micropylar region × 1 000; 7. 10 s after insemination, showing the annular apophysis (Aa) encircle the micropyle on the egg membrane, the spermatozoa (Spi) reaching the vestibule and the spermatozoa (Spo) out of the annular apophysis × 4 000; 8. 20 s after insemination, showing the annular apophysis (Aa), the vestibule (Ve) with elliptical structure (Es), the micropylar canal (Mc) and the spermatozoa (Sp) entering into the egg × 3 000;

Explanation of Plates II

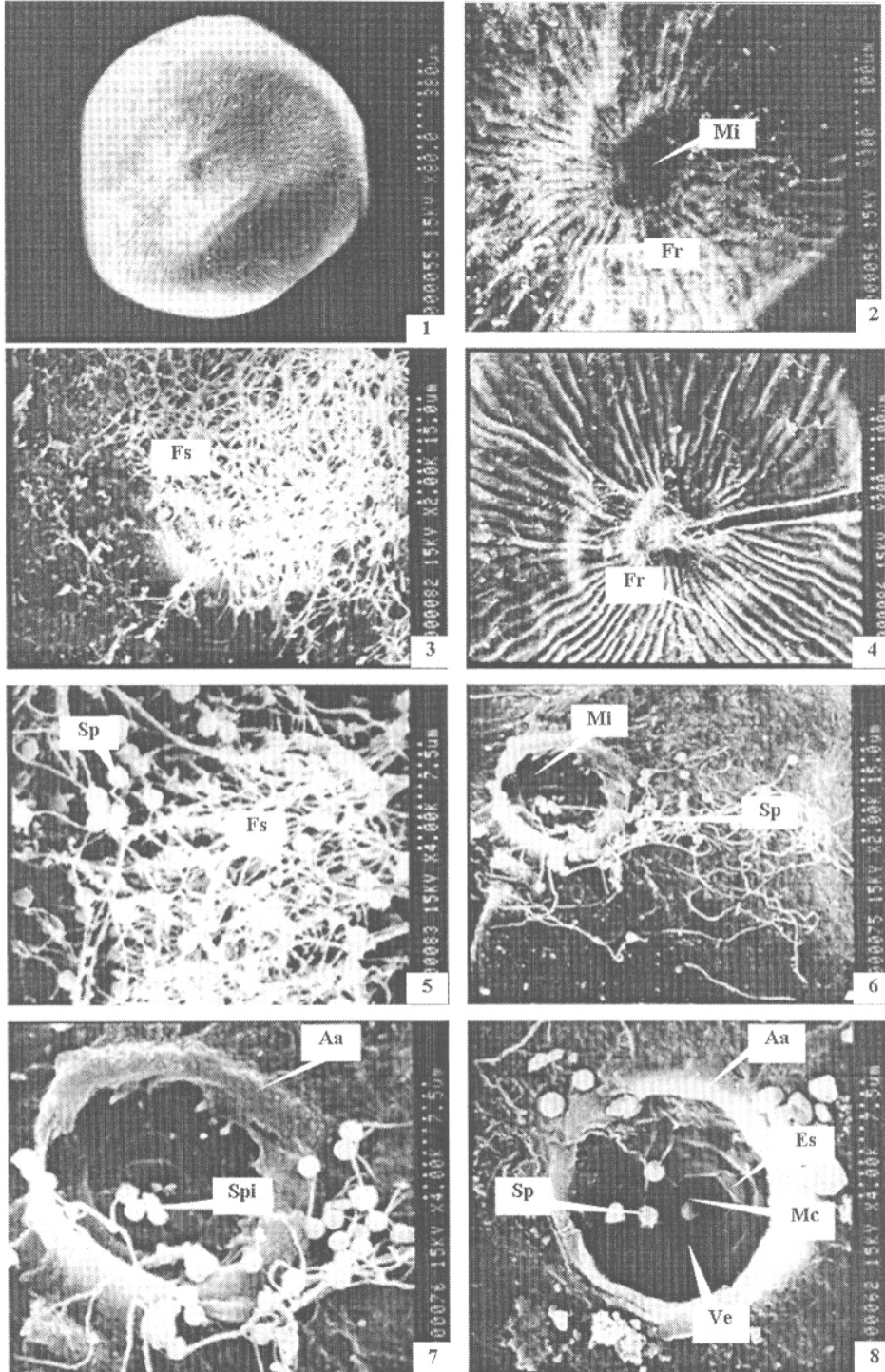
1. 1 min after insemination, showing the head of spermatozoa (Sh) and the tail of spermatozoa (St) × 6 000; 2. 1.5 min after insemination, showing the exposed micropyle with two circles of annular apophysis (Aa) encircled and the spermatozoa (Sp) with the tail disorganized × 3 000; 3. 2 min after insemination, showing the disorganizing spermatozoa (Ds) × 2 500; 4. 3 min after insemination, showing the contractive micropylar canal (Mc) and the spermatozoa (Sp) being block out of the egg × 4 000; 5. 5 min after insemination, showing the fertilization plug (Fp) and disorganizing spermatozoa (Ds) × 2 000; 6. 20 min after insemination, showing the micropyle (Mi) and the disorganized spermatozoa (Ds) × 2 000.

尹洪滨等 黄颡鱼受精早期精子入卵扫描电镜观察

图版 I

YIN Hong-Bin *et al.* Scanning Electron Microscopic Observation on the Sperm Penetration into Eggs in *Pseudobagrus fulvidraco*

Plate I

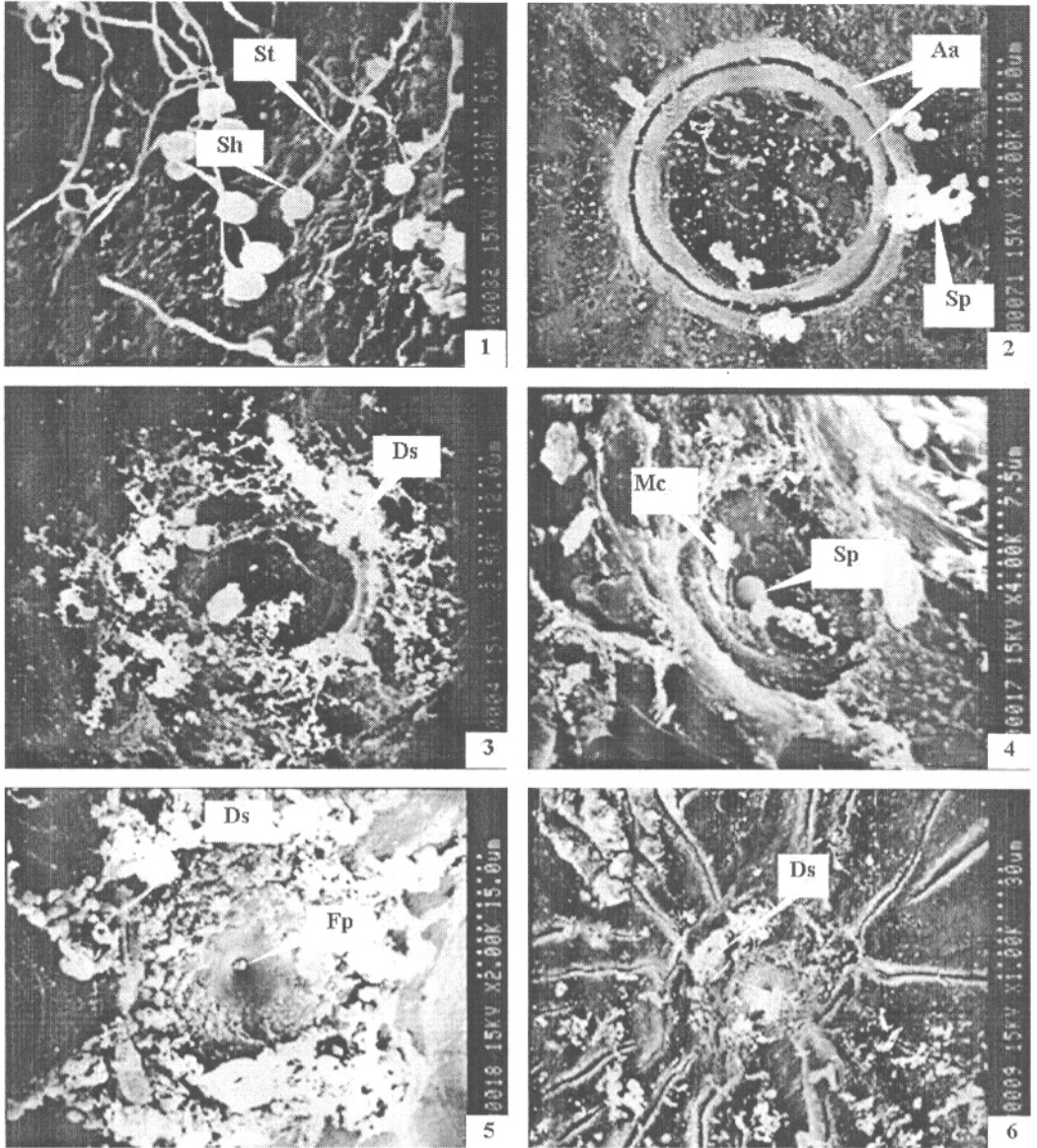


尹洪滨等:黄颡鱼受精早期精子入卵扫描电镜观察

图版 II

YIN Hong-Bin *et al.* Scanning Electron Microscopic Observation on the Sperm Penetration into Eggs in *Pseudobagrus fulvidraco*

Plate II



图版说明见文后