

·研究简报·

栉孔扇贝受精卵减数分裂的细胞学研究

Cytological study on meiosis of fertilized eggs from *Chlamys farreri*

杨爱国 王清印 孔杰 刘志鸿 刘萍 李锋 王如才 姜明

(中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

(青岛海洋大学, 266003)

Yang Aiguo Wang Qingyin Kong Jie Liu Zhihong Liu Ping Li Feng

(Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

Wang Rucai Jiang Ming

(Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003)

关键词 栉孔扇贝, 受精卵, 减数分裂, 雌性原核, 雄性原核, 多精入卵

Key Words *Chlamys (Azunapecten) farreri*, fertilized egg, meiosis, maternal pronucleus, paternal pronucleus, polyspermy

1 材料与方法

1.1 材料

栉孔扇贝(*Chlamys farreri*) 亲贝, 1997年5月取自青岛石老人养殖场, 入池后雌雄分开暂养。DAPI (4', 6-diamidino-2-phenylindole dihydrochloride) 为美国 Sigma 公司产品。

1.2 方法

挑选性腺成熟的雌雄亲贝, 分别移入水温 18℃ 加满过滤海水的 15 L 塑料桶内, 产卵排精后以适当比例混合, 每个卵子周围有 2~5 个精子。从受精前至第 1 次卵裂每隔 5 min 取样 1 次, 60% 甲醇固定 2 次, DAPI 染色, 用荧光显微镜在 365 nm 下观察受精卵的发育过程。

2 结果

2.1 极体的排出

栉孔扇贝成熟卵子受精前停留在第 1 次减数分裂中期, 此时同源染色体配对, 整齐排列在中期赤道板上(图版 I-1)。

受精后精子穿过卵膜, 精子的锥形头部进入细胞质膜, 卵细胞染色体在纺锤丝的牵引下, 同源染色体开始分开, 并同时向动物极移动(图版 I-2)。同一批受精卵的减数分裂过程并不完全同步, 受精后 15 min 个别卵子排出第一极体, 受精后 30 min 有 70% 的受精卵排出第一极体(图版 I-3)。精子入卵后, 精核膨大形成球形, 卵细胞的同源染色体已经分开, 其中一半到达动物极, 形成第一极体排出, 完成第 1 次减数分裂。受精卵接着进行第 2 次减数分裂, 完成第 2 次减数分裂所需时间相对较短(图版 I-4), 排列在卵细胞中期赤道板上的染色单体开始分离, 此

时精核没有明显变化。受精后 35 min 第二极体排出(图版 I-5), 完成第 2 次减数分裂。

2.2 雌性和雄性原核的形成

卵子完成第 2 次减数分裂之后, 精核迅速膨大扩散, 形成雄性原核; 同时, 卵核也膨大扩散, 形成与雄性原核大小相似的雌性原核。此时, 雌性原核都达到最大(图版 I-6)。随后, 两原核逐渐靠近。受精后 55 min 左右, 在中间赤道板相遇, 染色体浓缩, 共同排列在中期赤道板上(图版 I-7)。

2.3 第 1 次卵裂

染色体在纺锤丝的牵引下, 向两侧移动, 移动方向与卵轴垂直(图版 I-8), 随着染色体的移动, 整个受精卵的形状也发生改变, 植物极凸起, 形成三叶草结构(图版 I-9)。约在受精后 80 min, 栉孔扇贝第 1 次卵裂形成两个大小不均等的细胞(图版 I-10)。

2.4 多精入卵及第一极体分裂

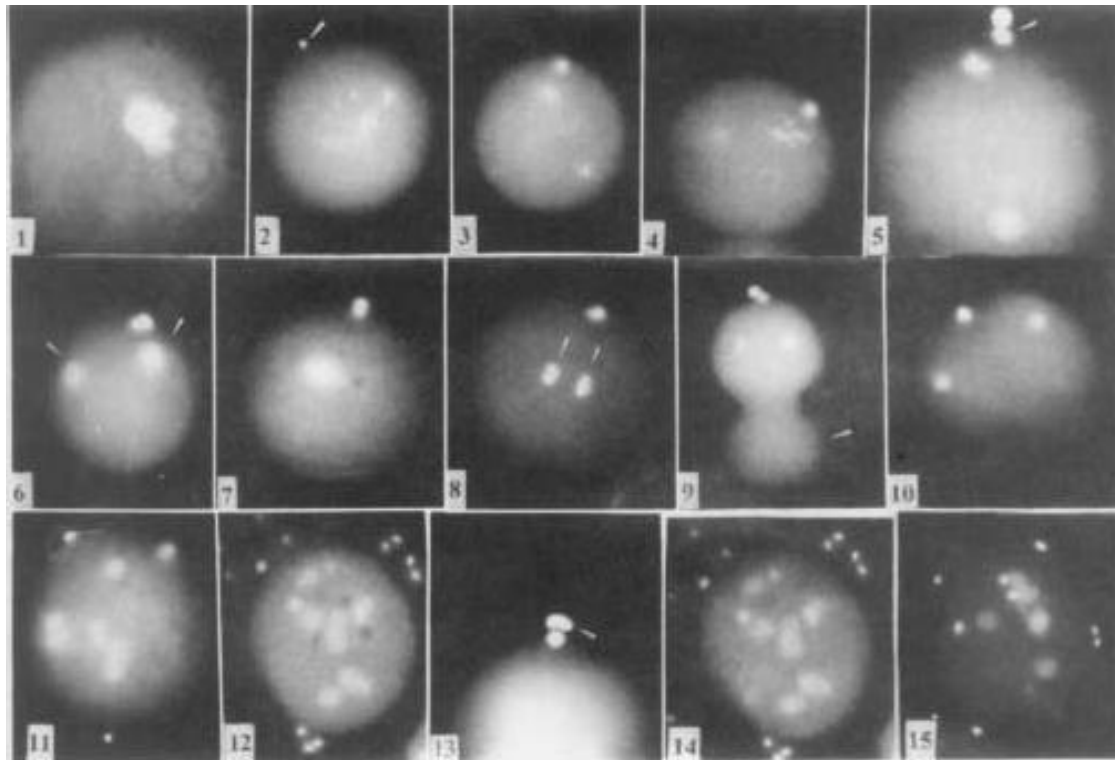
栉孔扇贝存在多精入卵现象。精子入卵后形成大小不一、发育程度不等的多个精核, 并膨大扩散形成不规则形状(图版 I-11, 12)。在第 2 次减数分裂的同时, 少数受精卵的第一极体可分裂成两个细胞(图版 I-13)。

3 讨论

3.1 精子入卵的位置

有些动物的卵和精子之间存在着障碍, 精子入卵必须经过一定的位置。鱼类卵子外面有一层坚韧的卵壳, 精子必须通过卵孔才能到达卵表面^[1]。中华绒螯蟹的卵没有卵孔, 精子可以从任何位置入卵^[2]。Longo F J 等^[3]也曾报道双壳类贻贝 *Mytilus edulis* 精子可以从任意位置入卵, 而不顾及第一次减数分裂纺锤体的存在。

收稿日期: 1998-02-23



图版I Plate I

1 成熟卵, $\times 1000$ 。Ripe egg. 2 精子(箭头)入卵, $\times 600$ 。Sperm (arrow) incorporating egg. 3 释放第一极体(箭头), $\times 600$ 。The first polar body (arrow) released. 4 第2次减数分裂, $\times 600$ 。The second meiosis. 5 释放第二极体(箭头), $\times 1000$ 。The second polar body (arrow) released. 6 雌雄原核(箭头)达到最大, $\times 600$ 。Female and male pronuclei (arrow) reached their maximum sizes. 7 雌雄原核联合, $\times 600$ 。Female and male pronuclei (arrow) associated. 8 染色体(箭头)向两侧移动, $\times 600$ 。Maternally and paternally derived chromosomes (arrow) moving to the spindle poles. 9 形成极叶(箭头), $\times 600$ 。Polar lobe (arrow) formed. 10 第一次卵裂, $\times 600$ 。The first cleavage division. 11, 12 多精入卵, $\times 600$ 。Polysperm incorporating egg. 13 第一极体(箭头)分裂, $\times 600$ 。Cleavage of polar body 1 (arrow). 14 多精入卵正常发育, $\times 600$ 。Normally developed egg with polysperm incorporated. 15 多精入卵未发育, $\times 600$ 。Not developed egg with polysperm incorporated.

栉孔扇贝的卵为均黄卵, 未受精时无法分辨动植物极, 在荧光显微镜下观察, 精核相对于第一极体(动物极)没有特定的位置, 由此推测, 栉孔扇贝精子可以从任意位置入卵。

3.2 精子入卵后的变化

精子入卵时已完成减数分裂的动物卵子, 如海胆, 雌原核已经存在, 等待着精子的进入和转化为雄性原核^[6], 推测精核和卵核的发育之间存在着某种机制使二者相联系。全海笋 *Barnea candida* 的成熟卵受精时处于胚泡阶段, 抑制钙离子吸收或抑制酸的释放都会抑制胚泡的破裂, 从而抑制卵染色体的变化。因此, Dube F^[4]认为, 受精同时启动了精核和卵核, 但变化途径不同。而前者对精子的去浓缩不产生影响, 后者才抑制精子的去浓缩。

栉孔扇贝的精子进入卵子后, 精核有两次明显的膨大扩散

过程, 一次为精子刚刚入卵时, 精核膨大去浓缩成为圆球形; 另一次为第2次减数分裂之后, 精核迅速扩散形成雄性原核, 与雌性原核的形成同步。在两次过程之间, 精核变化不大, 以等待卵细胞染色体的成熟分裂。有关栉孔扇贝精核和雄核之间的内在联系以及启动机制还需进行深入的研究。

3.3 多精入卵

多精入卵在动物界中属于正常现象, 如软骨鱼、两栖类、爬虫类、鸟类、某些软体动物以及许多昆虫的卵^[5]。一般情况下, 与雌性原核最近的雄性原核起到受精作用, 当其雌性原核融合或联合后, 其它入卵的精子就停止原核化或被吸收, 合子核能释放某种因子直接或间接地作用于超数精核^[1]。

栉孔扇贝卵子受精后 50 min, 有些卵子内有一个雌性原核和多个精核, 此时受精卵已经完成了极体的释放和雌雄原核形

成阶段,表明多个精核并没有影响到受精卵的发育(图版I-14)。而在另一些卵子内可看到大小不等的原核,卵子没有排出第一和第二极体,这可能是精子过多溶化了卵膜,使受精卵停止了胚胎发育(图版I-15)。但是否与受精卵缺乏一个健全的机制抑制多精受精有关还有待进行研究。

参 考 文 献

- 1 堵南山,等. 中华绒螯蟹受精的细胞学研究. 中国科学 B 辑, 1992, (3):260~265
- 2 叶玉珍,等. 人工复合三倍体鲤卵的受精生物学研究. 水生生物学报, 1994, 18(1):17~21
- 3 Longo F J, et al. Cytological aspects of fertilization in the Lamellibranch, *Mytilus edulis* II. Development of the male pronucleus and the association of the maternally and paternally derived chromosomes. J Exp Zool, 1969, 172: 97~120
- 4 Dube F, et al. Sperm nuclear decondensation in *Barnea candida* (Mollusca, Pelecypoda) oocytes does not require germinal vesicle breakdown. J Exp Zool, 1982, 221:383~387
- 5 L. 罗丝柴尔得. 受精. 李汝祺, 江先群译. 北京: 科学出版社, 1963
- 6 Longo F J, et al. Expansion of the sperm nucleus and association of the maternal and paternal genomes in fertilized *Mulinia lateralis* eggs. Biol Bull, 1991, 180:56~64