

文章编号:1005-8737(2000)02-0001-04

## 索氏六须鲶受精早期精子入卵的扫描电镜观察

尹洪滨<sup>1</sup>, 孙中武<sup>2</sup>, 潘伟志<sup>1</sup>

(1. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070;  
2. 东北林业大学野生动物资源学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘要:**用扫描电镜对索氏六须鲶受精早期精子入卵过程进行系统观察。结果显示,索氏六须鲶在受精后30~60 s内完成精子入卵过程;在受精后2 min精子开始逐渐解体,直至受精后15 min左右,受精卵外精子全部解体。通过对精子和卵子的精孔管的测量判定索氏六须鲶受精方式为单精受精。

**关键词:**索氏六须鲶;受精;扫描电镜观察

**中图分类号:**Q959.499

**文献标识码:**A

索氏六须鲶(*Silurus soldatovi*), 俗称怀头鲶, 属鲶形目, 鲶科, 鲶属。是主要分布于我国北方黑龙江、辽河等水系的大型淡水经济鱼类。几年来,在索氏六须鲶的人工繁育中发现,人工催情的雄鱼只能挤出少量精液,致使卵子的受精率低。为此,对其受精生物学进行系统研究。关于鱼类受精生物学,国内外均有研究报道,而有关受精前后精子入卵方面的研究则为数不多。目前已见有底鲮、真鲷、鲑、鲈、草鱼、鲢、鲤的研究报道。而鲶形目鱼类近百种,却未见此方面研究。本文则对用扫描电镜观察索氏六须鲶精子的入卵时间、程序、时限及其早期受精的机制等做一报道。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 实验材料

1998年和1999年6月(索氏六须鲶产卵期)采于黑龙江省肇东市东发渔场。选出性成熟的雌雄亲鱼,药物注射催情后,暂放于实验鱼池内,水温(21±1)℃。待亲鱼开始发情,人工干法受精。对索氏六须鲶的精、卵以及不同受精时间(2、5、10、20、30、40、

50 s, 1、2、3、6、10、15、20、30、40、50、60 min)的受精卵分别取样,每样30~40粒。

#### 1.2 实验方法

样品用2.5%戊二醛固定。固定液相应缓冲液冲洗,转入1%锇酸固定2 h,固定液相应缓冲液冲洗。梯度乙醇溶液脱水,乙酸异戊酯置换,临界点干燥,离子溅射镀膜,扫描电镜下观察拍照。加速电压15 kV。有关精、卵相关参数依照电镜照片给定标准尺寸经测量换算求得。

### 2 结 果

#### 2.1 索氏六须鲶成熟卵细胞的外部形态结构

索氏六须鲶的成熟卵细胞呈球形,直径约1 mm。卵细胞外层是厚厚的絮状壳膜。由于壳膜的覆盖,在扫描电镜下见不到受精孔部位。在对卵球经过适当的旋动处理后,可以将卵球外的大部分壳膜去除,受精孔清晰可见(图版I-1)。受精孔位于卵球的动物极端,呈漏斗状凹陷,可看到卵球经旋动处理后,凹陷的受精孔区及其周边部分的壳膜部分始终保持完好,壳膜厚约3 μm,壳膜外层尚有许多丝絮状或片絮状的悬浮物质,其厚度在3~5 μm。不论壳膜本身,还是壳膜下的卵膜均有大量微小的孔洞,孔径为0.3~0.5 μm(图版I-5)。在精子未进入卵内时,受精孔区底部的精孔管是敞开的,它是

收稿日期:1999-07-15

基金项目:农业部“九五”重点项目(渔95-B-96-03-01)

作者简介:尹洪滨(1954-),女,黑龙江省泰来县人,中国水产科学院黑龙江水产研究所副研究员,从事鱼类遗传育种研究。

精子入卵的唯一通道。

## 2.2 精子入卵的时序和过程

扫描电镜对索氏六须鲶不同受精时间的受精卵观察发现,在受精后 2 s,有 55% 受精卵样品能在受精孔区见到有精子(图版 I-2),到受精后 30 s,受精孔区能检出精子的样品数可达 100% (表 1)。

到达受精孔区的精子很快由精孔管进入卵中。图版 I-3 为受精后 30 s 精子入卵的照片,可见 1 个精子拖着长长的尾巴正在通过精孔管入卵。索氏六须鲶精子头部为球形,直径为 1.6~2.0  $\mu\text{m}$ ,尾长 11~13  $\mu\text{m}$ ,而卵子精孔管的直径只有 2.6~3.0  $\mu\text{m}$ ,每次只能容许 1 个精子进入。

表 1 索氏六须鲶精子入卵的时序

Table 1 Time of *S. soldatovi* sperm entering into living egg

项目 Item	受精时间/s Fertilized time				
	2	5	10	20	30
被检的受精卵数 Numbers of detected fertilized eggs	20	20	20	20	20
受精孔区出现精子的样品数 Sample numbers of sperms at zone of fertilized hole	11	14	17	19	20
百分比/% Percentage	55	70	85	95	100

当精子通过精孔管进入卵子后,精孔管立即被形成的受精塞堵塞。索氏六须鲶的受精塞为丝絮状物质(图版 I-4),图中尚能见到精孔管靠近受精塞的 2 个对称部位向外凸出。受精塞究竟是精孔细胞分泌的某种物质形成的,还是精孔细胞发生质突形成的尚不清楚。

受精塞堵塞精孔管之后,后续到达的精子在漏斗状受精孔区内受阻,而且越聚越多(图版 I-6),可看到受精孔区滞集的大量精子形成了一个线团样的球体,精子的头均朝向外侧而尾部则在内侧,显然精子对卵子的受精孔区具有识别性或吸引力。从受精后 1~2 min 的受精卵样品均可明显地在电镜下看到这一现象。

从受精后 2 min 固定的样品开始,扫描电镜下可看到附着于卵上的精子逐渐解体(图版 I-7),持续 13 min 后,即受精后 15 min 的固定样品扫描电镜下可见精子全部解体,但是精孔管仍被受精塞堵塞(图版 I-8)。

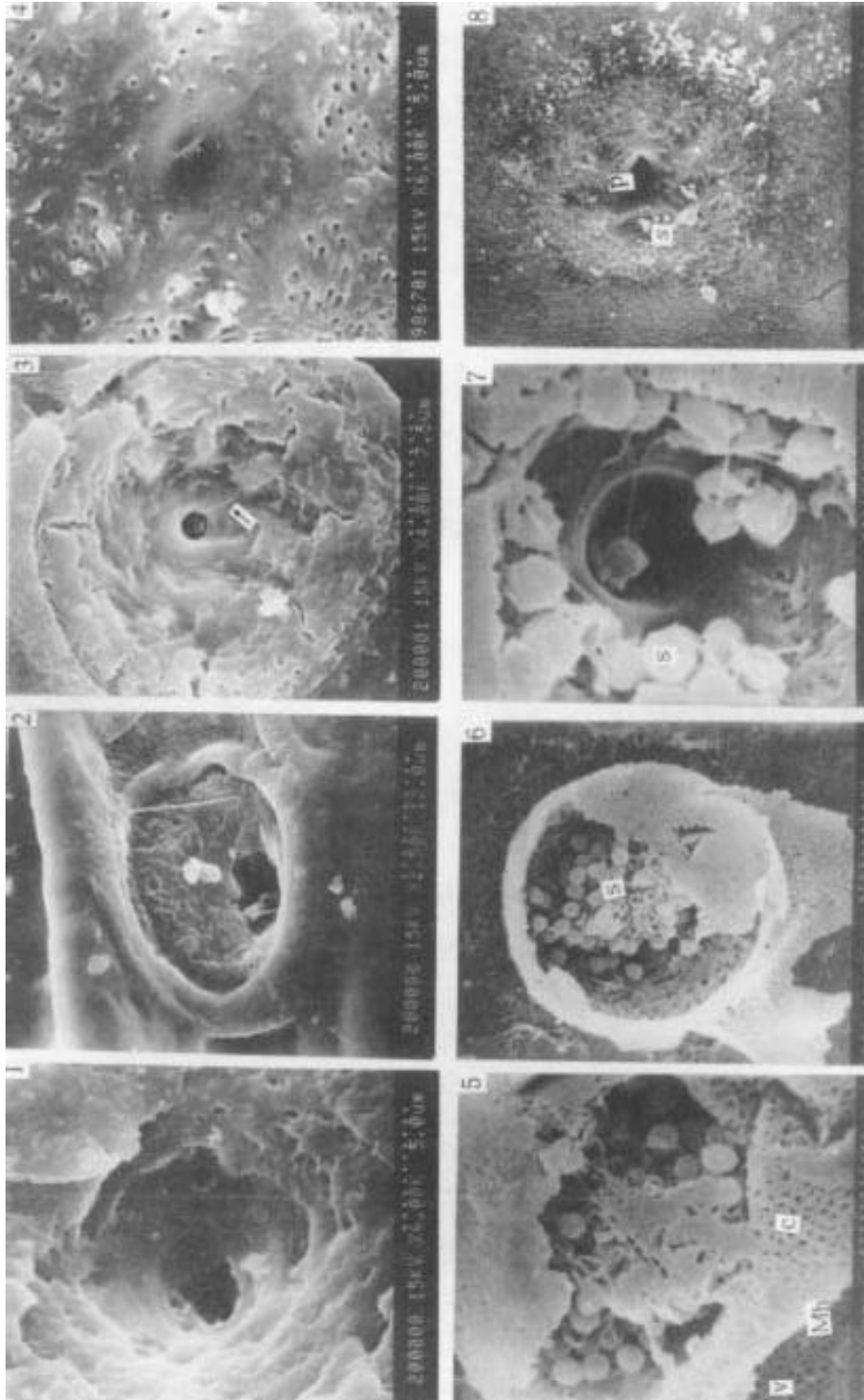
## 3 讨论

(1)索氏六须鲶卵为粘性卵 当成熟卵产出遇

水后,表现出较强的粘性,使产出的卵子能粘附于某些固体支持物上完成孵化过程。此粘性来源于壳膜(或称胶膜)中的主要组成成分—粘蛋白(或称糖蛋白)<sup>[1]</sup>,尤其壳膜最外层的悬浮部分更为明显。从图版中可看到,不论是受精卵的外层壳膜,还是里层卵膜,都有大量的微孔,这些微孔是胚胎发育与外界进行物质交换的通道。因此,受精卵粘附于某些支持物上,避免了受精卵比重大,易沉降堆积的现象发生,确保了受精卵与外界的交流畅通无阻以及胚胎发育孵化的顺利完成。

(2)精子附着于卵上是实现受精的先决条件 索氏六须鲶精子在 2 s 即能到达受精孔区的占 55%,可见精子运动的速度之快。别外,索氏六须鲶除了卵子的粘性对精子具有较强粘附作用外,精卵之间还具有趋化性(chemotaxis)<sup>[2]</sup>,即卵子能分泌某种物质吸引精子,同时精子能直接游向同种卵子,而不是随机的无目的运动。从图版 I-6 可看出这一特性:在受精塞形成并堵塞了精孔管后,后续到达的精子不再能够进入受精卵中,而在受精孔区越聚越多。但是,这些精子都是头朝外侧仍在继续寻找入卵的通道,而不是盲目任意的运动。

(3)单精受精 这是索氏六须鲶二倍体繁育的重要保障。否则,染色体数目将超出正常的染色体组而导致胚胎发育的败育。电镜观察结果表明,索氏六须鲶卵子上的精孔管在精子进入前始终是敞开的,当第 1 个精子进入后,精孔管内立即被丝絮状受精塞所堵塞,而且精孔管靠近受精塞的对称两侧向外突出,发生形变(图版 I-4),阻挡其它的精子进入从而实现单精受精。索氏六须鲶受精卵形成的受精塞形状与目前国内外有关文献报道的不同<sup>[3~5]</sup>,而且精孔管靠近受精塞两侧对称形变,也是没有报道的。笔者认为,索氏六须鲶产生受精塞避免多精受精的机制有两点可能:①精孔管细胞在激素调控下产生细胞质突形成受精塞,这主要从精孔管突凸形变考虑;②精孔细胞在第 1 个精子入卵后释放出一种物质形成丝絮状固体即受精塞,阻止多精受精。受精塞究竟是以哪一种方式形成来控制多精受精,尚待进一步研究。索氏六须鲶精子入卵过程是在受精后 30~60 s 内完成的。在此期间,只要精子通过精孔管入卵,受精塞便即刻形成,阻止其它精子进入。受精塞一旦生成后,精孔管就被堵塞而不再打开。图版 I-8 可见,至受精后 15 min,精子全部解体,但仍可看到精孔管被受精塞堵塞。



图版 I Plate I

## 图版说明

1. 索氏六须鲶成熟卵细胞外部形态结构, 示受精孔区,  $\times 6\ 000$ 。External morphology and structure of the mature egg of *S. Soldatovi*.
2. 受精后 2 s, 有精子进入受精孔区,  $\times 2\ 500$ 。At second 2 after fertilizing, there are sperms entering into micropyle.
3. 受精后 30 s, 有精子通过精孔管入卵,  $\times 4\ 000$ 。At second 30 after fertilizing, there is a sperm entering through vas deferens into the egg.
4. 精子入卵后, 受精塞在精孔管中形成,  $\times 6\ 000$ 。After the sperm entering the egg, fertilizing plug has formed in vas deferens.
5. 受精卵的壳膜和卵膜上都有大量微孔,  $\times 5\ 000$ 。There are a lot of micro-pores on egg shell and egg membrane of fertilized egg.
6. 受精塞形成后, 大量精子滞集在受精孔区,  $\times 3\ 000$ 。After fertilizing plug forming, a lot of sperms gather together in micropyle district.
7. 受精后 2 min 精子逐渐解体,  $\times 8\ 000$ 。At minute 2 after fertilizing, sperms come to dissociate.
8. 受精后 15 min, 精子完全解体,  $\times 25\ 000$ 。After fertilizing 15 min, sperms dissociated absolutely.

F - 漏斗状凹陷 Funnel-like depression; Mc - 受精孔 Micropylar canal; S - 精子 Sperm;  $\uparrow$  - 鞭毛 Flagellum; P - 受精塞 Fertilization plug; C - 壳膜 Chorion; V - 卵膜 Egg membrane; Mh - 微孔 Microhole.

此外, 索氏六须鲶精子从受精后 2 min 开始逐渐解体, 从尾部到头部, 完全解体要持续 10 ~ 15 min, 这一结果若与鲂<sup>[4]</sup>(受精后 30 s 开始解体, 30 s 后全部解体) 相比, 索氏六须鲶精子入卵持续时间长, 解体时间滞后而且长。这一特性可能与卵子壳膜厚、粘性大等因素有关。因为精子附着于卵子壳膜上之后, 它需要有足够的能量和时间, 克服阻力, 最终到达受精孔区, 由精孔管入卵。因此, 在人工授精时, 精卵拌合应均匀而充分, 使卵子壳膜上附着均匀, 有利于精卵结合, 提高受精率。

## 参考文献:

- [1] Segall G K, Lennarz W J. Chemical characterization of the compo-

nent of the jelly coat from sea urchin eggs responsible for induction of the acrosome reaction[J]. Dev Biol, 1979, 71: 33 - 48.

- [2] Miller R L. Chemotaxis during fertilization in the hydroid *Campanularia*[J]. J Exp Zool, 1996, 162: 23 - 44.
- [3] Syollosi, D and R. Billard. The micropyle of trout eggs and its reaction to different infferent incubation media[J]. J Microsc(Paris) 1974, 21: 55 - 62.
- [4] 王瑞霞, 张毓人, 付仓生, 等. 鲂鱼受精早期精子入卵的扫描电子显微镜观察[J]. 水产学报, 1982, 6(4): 313 - 320.
- [5] 刘 筠, 陈淑群, 王义先. 鱼卵子受精的细胞学研究[J]. 湖南师范学院自然科报, 1963, 5: 1 - 15.

## Scanning electron microscopic observation on sperm penetration of *Silurus soldatovi* egg

YIN Hong-bin<sup>1</sup>, SUN Zhong-wu<sup>2</sup>, PAN Wei-zhi<sup>1</sup>

(1. Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China;

2. College of Wildlife Resource, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

**Abstract:** The observation indicates that the sperms of *Silurus soldatovi* penetrates the eggs between 30~60 s after the fertilization begins, and the sperms begin to dissociate at second minute after fertilization and all the sperms outside the oosperm finish dissociating at about 15th minute after fertilization begins. By measuring the sperm and micropylar canal of the egg, it comes to the conclusion that the fertilization way of *S. soldatovi* is single-sperm fertilization.

**Key words:** *Silurus soldatovi*; fertilization; scanning electron microscopic observation