

研究简报

大鳞副泥鳅卵子壳膜结构与授精过程的扫描电镜观察

SCANNING ELECTRON MICROSCOPIC OBSERVATIONS ON THE ULTRASTRUCTURE OF THE CHORION AND THE PROCESS OF INSEMINATION OF *PARAMISGURNUS DABRYANUS*

姚纪花 周平凡

YAO Ji-Hua, ZHOU Ping-Fan

(上海水产大学渔业学院, 200090)

(College of Fisheries, SFU, 200090)

关键词 大鳞副泥鳅, 卵壳, 授精, 扫描电镜

KEYWORDS *Paramisgurnus dabryanus*, chorion, insemination, scanning electron microscopy

中图分类号 Q-336; Q132.1

国内外学者对鱼类成熟卵子壳膜表面结构及受精形态学的研究表明, 鱼类卵子有三大类型: 非受精孔型, 如软骨鱼类[曲漱惠等 1980]; 单一受精孔型, 如大多数硬骨鱼类[王瑞霞等 1982, 张天荫等 1993, 沈其璋等 1990, Brummett 和 Dumont 1979, Kuchnow 和 Scott 1977, Iwamtsu 和 Ohta 1981]; 多个受精孔型, 如鲟鱼[许雁和熊全沫 1988]。然而对硬骨鱼类中某些鱼类卵子的类型持有不同的看法, 如鳅类, 俄国学者 B. H. 卡藏斯基在泥鳅卵膜上发现有三个受精孔[高洁和王瑞霞 1961]; 另外, 近年的文献中[郑文彪等 1991]也有鳅类具多个受精孔的论述。而沈其璋等[1990]的研究则认为泥鳅与其它硬骨鱼类一样, 卵子表面仅有单个受精孔。由于鳅类的种属很多, 而迄今报道的又只限于泥鳅属中的泥鳅, 为了了解鳅科其它种类卵子的类型, 进一步提供更多的事实依据。本次观察以副泥鳅属中的大鳞副泥鳅(*Paramisgurnus dabryanus*)为材料, 通过扫描电镜对其成熟卵子壳膜表面结构进行了详细观察。并在此基础上, 又进一步观察了精子入卵的过程, 为鱼类受精生物学提供一些资料。

1 材料和方法

研究用鱼于1996年11~12月购自学校附近的农贸市场,在20~22℃条件下暂养二周以上, HCG 催青, 24小时后挤卵和精液, 在14~16℃下进行人工授精。取未受精卵及授精后2sec, 5sec, 15sec, 30sec, 1min, 1.5min, 2min, 3min, 5min, 7min 和10min 的卵子, 于4℃下用2.5%戊二醛一次固定四小时, 固定后用0.1M 磷酸缓冲液漂洗, 然后用酒精逐级脱水, 再用丙酮替换, 经过临界点干燥, 真空喷金, JSM-300型扫描电镜观察(加速电压10~15kV)。

2 结果

2.1 卵子壳膜的形态

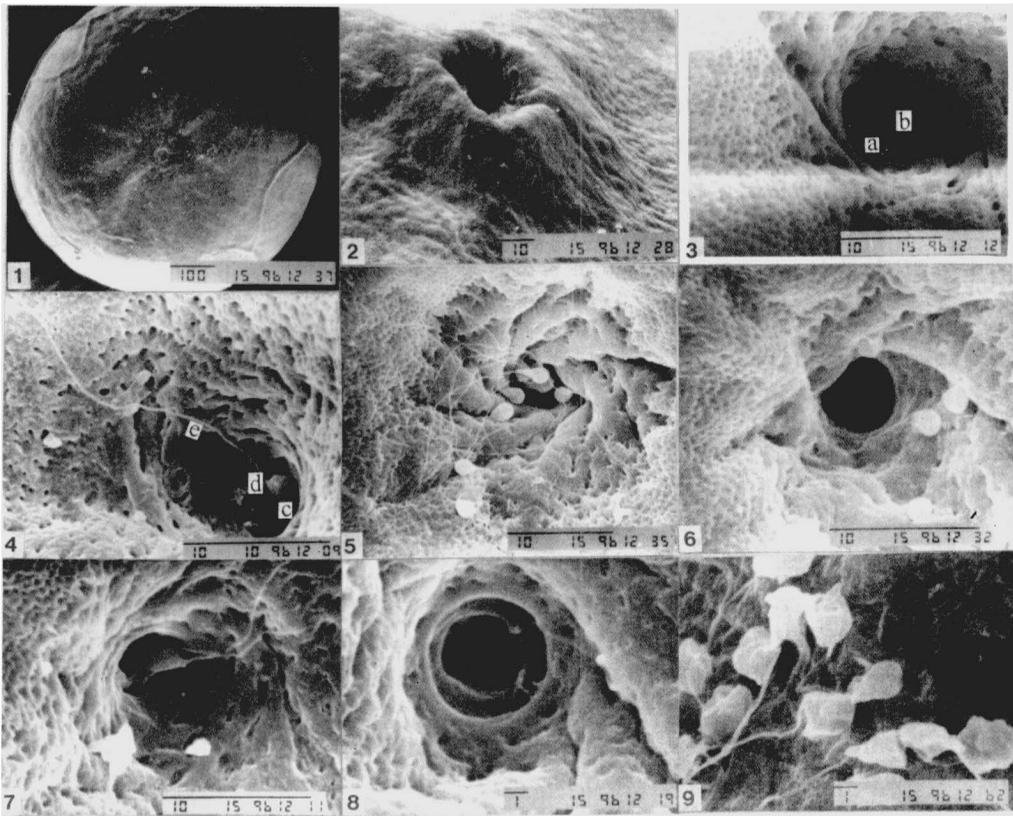
大鳞副泥鳅的卵为粘性端黄卵, 刚排出的成熟卵呈略扁圆球型, 土黄色, 卵径约700~750 μm , 低倍扫描电镜下在卵子动物极壳膜上可观察到一个凹陷, 此即为精孔区(图版-1), 在高倍率下的图像中, 清晰可见凹陷为漏头状, 整个凹陷区呈现出一个有规则的涡旋状结构, 涡旋纹路即大小不等的沟和嵴在不同卵球上其数量不一, 约为7~11条, 涡旋方向为逆时针方向。漏头状凹陷底部中央是受精孔, 受精孔呈管状结构即精孔管, 它通过内孔(直径2.2~3.0 μm)与卵的质膜相接触, 其外孔(直径为4.5~5.0 μm)开口于凹陷底部中央(图版-2, 3)。在精孔区, 未发现精孔细胞。通过对上百粒成熟未受精卵的扫描电镜观察表明, 大鳞副泥鳅成熟卵子壳膜上仅有一个受精孔, 它是精子入卵的必经之路。此外, 壳膜表面还观察到无数大小不一的小微孔, 排列似蜂窝状。

2.2 精子的形态

大鳞副泥鳅精子同其它硬骨鱼类一样, 也由头、颈和尾(鞭毛)三部分组成, 无顶体。头部为圆球形, 直径为1.6~2.0 μm , 颈部较粗短, 尾部呈长鞭毛状(图版-4)。

2.3 授精过程(14~16℃)

观察授精后固定的样品, 可见授精后2sec, 即有大量的精子聚集到精孔区, 有的精子已进入精孔管(图版-5, 6); 至5sec, 发现最先到达的精子头颈部已完全进入精孔管内, 尾部留在管外(图版-7), 但至1min 未见有一受精孔关闭, 直至1.5min, 才见有少量的受精孔被堵。授精后2~3min, 绝大部分卵子的受精孔完全封闭(图版-8), 授精后5min, 检查发现所有卵子的受精孔关闭, 授精过程结束。在观察授精过程中, 我们还发现授精后5min, 精子均保持完整的头、颈、尾结构, 7min 时, 精子头部变形, 10min 时头部破裂(图版-9), 失去受精能力。继续活体培养, 受精率达99%以上, 胚胎发育良好。



图版 Plate

1. 成熟未受精卵的低倍扫描电镜观察, 示壳膜上的小凹陷—精孔区。2. 精孔区放大, 示漏斗状的凹陷。3. 精孔区的高倍扫描电镜观察, 示精孔区的涡旋状结构及其底部的受精孔。a. 精孔管内孔, b. 精孔管外孔。4. 大鳞副泥鳅精子的形态。c. 精子头部。d. 精子颈部。e. 精子尾部(鞭毛)。5, 6. 授精后2sec的精孔区, 示大量的精子聚集到精孔区附近, 有的精孔管内已有精子进入。7. 授精后5sec的精孔区, 示一精子头颈部已完全进入受精孔, 尾部留在外。8. 授精后2min, 受精孔堵塞。9. 授精后10min, 精子头部破裂。

3 讨论

一般认为, 硬骨鱼类卵子壳膜表面只有一个受精孔, 然而不同学者对少数同一种鱼类却得出完全不同的研究结果, 如尼罗罗非鱼, 蓝厚珍等[1989]与黄永松[1990]的研究表明它是单个受精孔型, 而刘筠与张轩杰[1992]经多次观察却断定它属非受精孔型。由于双方都同时做了组织学与扫描电镜观察, 因而各抒己见, 至今尚未有统一的结论。这一状况同样存在于鳅类, 早在1949年, 文中前已提及卡藏斯基在泥鳅卵膜上发现有三个受精孔, 并认为真骨鱼类的受精孔数目或许较多[高洁和王瑞霞 1961], 近年一些资料[郑文彪等 1991]也述及鳅类具多个受精孔。而沈其璋等[1990]以鳅科泥鳅属的泥鳅卵子为材料, 通过扫描电镜观察, 得出了与上述不同的结论, 他们确证泥鳅卵子壳膜上只有一个受精孔。我们对副泥鳅属大鳞副泥鳅成熟卵的观察, 发现其卵子也属单一受精孔型。因此我们认为鳅类属于单受精孔型, 认为鳅类具多个受精

孔的提法似乎欠妥。因鳅类的种类不同,对其卵子的类型,尚待进一步查明。

另外,据多次试验发现,大鳞副泥鳅的受精率很高,达99%以上。分析其原因,可能与大鳞副泥鳅壳膜上特殊的精孔区结构有关。据近年 Amanze 和 Iyengar[1990]对靶鱼的受精生物学研究表明,靶鱼卵子精孔区特殊的沟和嵴的存在,可使受精率达99.7%;沈其璋等[1990]以泥鳅卵子为材料,从力学角度分析卵子壳膜上由沟和嵴组成的左涡旋状精孔区的结构,在受精时,可以形成涡旋流,并指出这种卵子比不具这种结构的卵子更有利于精子的云集和进入受精孔。通过观察,我们发现大鳞副泥鳅的精孔区结构与靶鱼和泥鳅的极其相似,这可能是受精率很高的主要原因。此外,大鳞副泥鳅卵子的受精孔开口时间较长,可能也是保证高受精率的一个因素。

大鳞副泥鳅的授精过程历时较多数已报道过的鱼类要长。根据我们的观察,大鳞副泥鳅完成授精过程历时2min-5min,而其它鱼类大多短于1min50sec,如鲂鱼[王瑞霞等 1982]、鲟鱼[许雁和熊全沫 1988]等仅需30sec左右,革胡子鲶[郑文彪等 1991]约1min,金鱼[张天荫等 1993]1min50sec左右。

参 考 文 献

- 王瑞霞,张毓人,傅仓生等. 1982. 鲂鱼受精早期精子入卵的扫描电子显微镜观察. 水产学报, 6(4):313~320.
- 许雁,熊全沫. 1988. 中华鲟受精过程扫描电镜观察. 动物学报, 34(2):325~328.
- 刘筠,张轩杰. 1992. 鱼类精子结构和相应的卵子类型. 湖南师范大学自然科学学报, 15(2):168~174.
- 曲淑惠,李嘉泳,黄浙等. 1980. 动物胚胎学. 北京:高等教育出版社. 41~43.
- 张天荫,封树芒,潘忠宗. 1993. 金鱼精子入卵过程的扫描电镜观察. 动物学研究, 14(2):166~170.
- 沈其璋,吴坤明,蔡振岩. 1990. 泥鳅精子入卵的动力作用. 动物学研究, 11(3):179~184.
- 郑文彪,潘炯华,安东等. 1991. 革胡子鲶受精过程的扫描电镜观察. 动物学研究, 12(2):111~115.
- 高洁,王瑞霞. 1961. 水产动物胚胎学. 北京:农业出版社. 126.
- 黄永松. 1990. 尼罗罗非鱼成熟卵结构及精子入卵早期的电镜观察. 动物学报, 36(3):227~230.
- 蓝厚珍,曲淑惠,陈艳卿等,1989. 尼罗罗非鱼卵子结构扫描电镜观察. 动物学报, 35(1):107~108.
- Amanze D, Iyengar A. 1990. The micropyle, a sperm guidance system in teleost fertilization. *Development*, 109(2):495~500.
- Brummett A, Dumont J. 1979. Initial stage of sperm penetration into the egg of *Fundulus heteroclitus*. *J Exp Zool*, 210: 417~433.
- Iwamaatsu T, Ohta T. 1981. Scanning electron microscopic observations on sperm penetration in teleostean fish. *J Exp Zool*, 218:261~277.
- Kuchnow K P, Scott J R. 1977. Ultrastructure of the chorion and its micropyle apparatus in the mature *Fundulus heteroclitus* (Walbaum) ovum. *J Fish Biol*, 10(3):197~201.