

文章编号: 1000-0615(2003)04-0377-04

• 研究简报 •

史氏鲟精子入卵过程的扫描电镜观察

曲秋芝, 孙大江, 马国军, 邱岭泉, 王丙乾

(中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070)

关键词: 史氏鲟; 精子入卵; 扫描电镜观察

中图分类号: S917.4 文献标识码: A

Scanning electron microscopic observation on sperm penetration of *Acipenser schrenckii*

QU Qi-zhi, SUN Da-jiang, MA Guo-jun, QIU Ling-quan, WANG Bing-qian

(Heilongjiang River Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China)

Abstract: The observation indicates the head length of sperm 6.5 μ m, the top of broad head 1 μ m, the lower part of head 1 μ m, neck 0.5 μ m and tail length 16 μ m under scanning electron microscope (SEM). The sperm's tail has axle and two wings. There are 6-9 micropyles on the animal pole of the mature egg of *Acipenser schrenckii*, all of which are able to accept sperm. The micropyle's outer diameter is 18 μ m and inner 6 μ m. There are micropyle cells filling in micropyle. The micropyle cells disappear after fertilization 10s. The micropyles are sealed with membrane after sperms penetrating. The fertilization is got through about in two minutes. The sperms not penetrating egg are blocked on the way. Amur sturgeon's sperm and mature egg are different from those of other sturgeons.

Key words: *Acipenser schrenckii*; sperm penetration; observation under scanning electron microscope

史氏鲟(*Acipenser schrencki*) 隶属鲟形目(Acipenseriformes)、鲟科(Acipenseridae)、鲟属(*Acipenser*), 是黑龙江特产和重要的经济鱼类之一, 为淡水定居种类。鲟鱼是古老的生物类型, 世界上约有 28 种, 仅分布于北半球。由于自然环境的改变和人类活动的影响, 所有鲟鱼均处于不同程度的濒危状态, 有的已近灭绝^[1, 2]。我国有 8 种鲟鱼, 其中黑龙江 2 种, 即史氏鲟和达氏鳇。近年来, 随着人工养殖技术的提高和完善, 史氏鲟成为国内最主要的鲟鱼养殖种类。有关史氏鲟人工养殖、基因组 DNA 含量、胚胎发育等国内有较多研究, 而对受精生物学方面研究尚未见报道。特殊的分类地位, 决定了鲟鱼有别于其它鱼类的、较复杂的生殖生理机制, 在人工繁殖中需采用特殊的性别鉴定、成熟度鉴别、授精和孵化方法。了解和掌握史氏鲟的繁殖生理特性, 能更有效地提高人工繁殖效率, 促进我国鲟鱼养殖业的健康发展。本文在研究史氏鲟受精生物学过程中, 利用扫描电镜对精子入卵过程进行了详细的观察。

收稿日期: 2002-07-03

资助项目: 国家“十五”攻关项目资助(2001BA505B506)

作者简介: 曲秋芝(1957-), 女, 黑龙江哈尔滨人, 副研究员, 主要从事鱼类繁殖生理学研究。Tel: 0451-4861424, E-mail: quqiuzhi@

163.com

1 材料与方法

1.1 实验材料

2002年5月,捕自黑龙江成熟史氏鲟雌鱼1尾,体重25kg;雄鱼数尾。经人工催情、采卵、采精后进行干法授精。对史氏鲟的精子、卵子及不同授精时间(2、5、10、20、30、40、50s和1、2、3、6、10、15、20、30、40、50、60min)的受精卵分别取样,每样取10~15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,再用1%锇酸固定1h,固定液相应缓冲液冲洗。50%、70%、80%、90%、95%、100%乙醇梯度脱水,每级脱水10min,乙酸异戊酯置换30min,临界点干燥,离子溅射镀膜,膜厚150Å,扫描电镜下观察拍照。精、卵相关参数依照电镜照片给定标准尺寸测量换算得到。

2 结果

2.1 成熟卵细胞的外部形态

史氏鲟成熟卵细胞呈椭球形,有长轴和短轴,长轴约3.72mm、短轴约3.16mm,每粒卵重约0.022g,卵黑灰色。动物极顶端有一浅色亮点,为极斑,极斑被深浅相间的环所环绕,为极环。IV期末卵的极环到极斑约占卵体的三分之一,V期卵的极环向极斑收缩,极斑亮度暗淡。III期末、IV初的卵无极斑和极环,只可分出动物极和植物极,极环向植物极方向颜色由深到浅,植物极颜色灰中现蛋黄色。卵膜表面光滑,卵膜具有3层结构,最外层是放射膜,扫描电镜观察呈蜂窝状,另外两层为卵黄外膜与卵黄内膜,受精后吸水略膨胀,卵体直径增加0.06~0.15mm。

扫描电镜观察,卵的极斑上可见到多个受精孔(图版I-2),图中可见9个受精孔,排列方式为每4个受精孔成梯形或梯形,其它卵的受精孔扫描观察中有6、7和8个不等。受精孔外径大约18μm,内径大约6μm。受精孔内有物质堵塞(图版I-3),这种物质称为精孔细胞。Richl和Götting^[3]对这些细胞曾做了光学显微镜观察,精孔细胞具有各种各样的细胞器,如粗面内质网、线粒体、小泡囊、高尔基体、微丝和微管,它们在胞质内有特殊的分布。这些特殊结构表明,精孔细胞的作用不仅是作精孔塞,而且是一种分泌细胞,分泌物作为吸引精子的信息,在受精开始时,精子有选择性地聚集在受精孔周围(图版I-5)。

2.2 精子外部形态

史氏鲟精子头部呈短棒状(图版I-1),前端稍细,后端稍粗,头顶戴有尖顶圆帽,帽沿明显突出。该结构为顶体(透视镜观察),精子头长6.5μm,头前端1μm,后端1.5μm,颈0.5μm,连接尾部,尾长约16μm,尾部中间为轴,轴两侧有翼呈扁平形。

2.3 精子入卵过程

史氏鲟成熟卵的各受精孔都具有接纳精子的功能。授精后10s,受精孔的精孔塞消失(图版I-4),受精孔敞开,精子到达受精孔区,但数量很少,个别精子进入受精孔。授精后50s~2min,大量精子拥入受精孔区和受精孔(图版I-5),精子进入卵的时间各不相同(图版I-6)。精子入卵后,受精孔内有花瓣膜挡住受精孔(图版I-7),部分精子挡在精孔外,瓣膜增大塞满受精孔(图版I-8),最后瓣膜收缩到受精孔内(图版I-9)。没有入卵的精子附着在极斑表面。受精前与受精后受精孔堵塞物的形状外观差别很大。受精全过程大约在2min内完成。

3 讨论

3.1 史氏鲟精子入卵过程与一般硬骨鱼的差别

水生动物精子入卵的时机具有种的特异性。对于卵子来说,在完成它的生长期之后,即在第一次成熟分裂开始之

前,直到第二次成熟分裂完成以后的这一段时间,都可以接受精子,但种类不同精子入卵的时机亦不同。人工授精的效果,主要取决于卵子的成熟程度^[4],过早或过迟,均可导致受精失败。卵子的单精或多精入卵甚至是单精受精还是多精受精,主要是由卵的结构决定的,也与受精时精卵的生理状态等有关。史氏鲟成熟卵的结构与一般硬骨鱼成熟卵的结构差别很大,Brummett 和 Dumont^[5]和 Iwamatsu 和 Ohta^[6]研究表明,硬骨鱼一般只有 1 个受精孔,如^[6]和索氏六须鲟^[7]。而鲟鱼类则有多个受精孔,且鲟鱼类的成熟卵和精子比一般硬骨鱼的成熟卵和精子大很多,精子的结构和形态也有显著差别。

3.2 史氏鲟精子入卵过程与中华鲟的差别

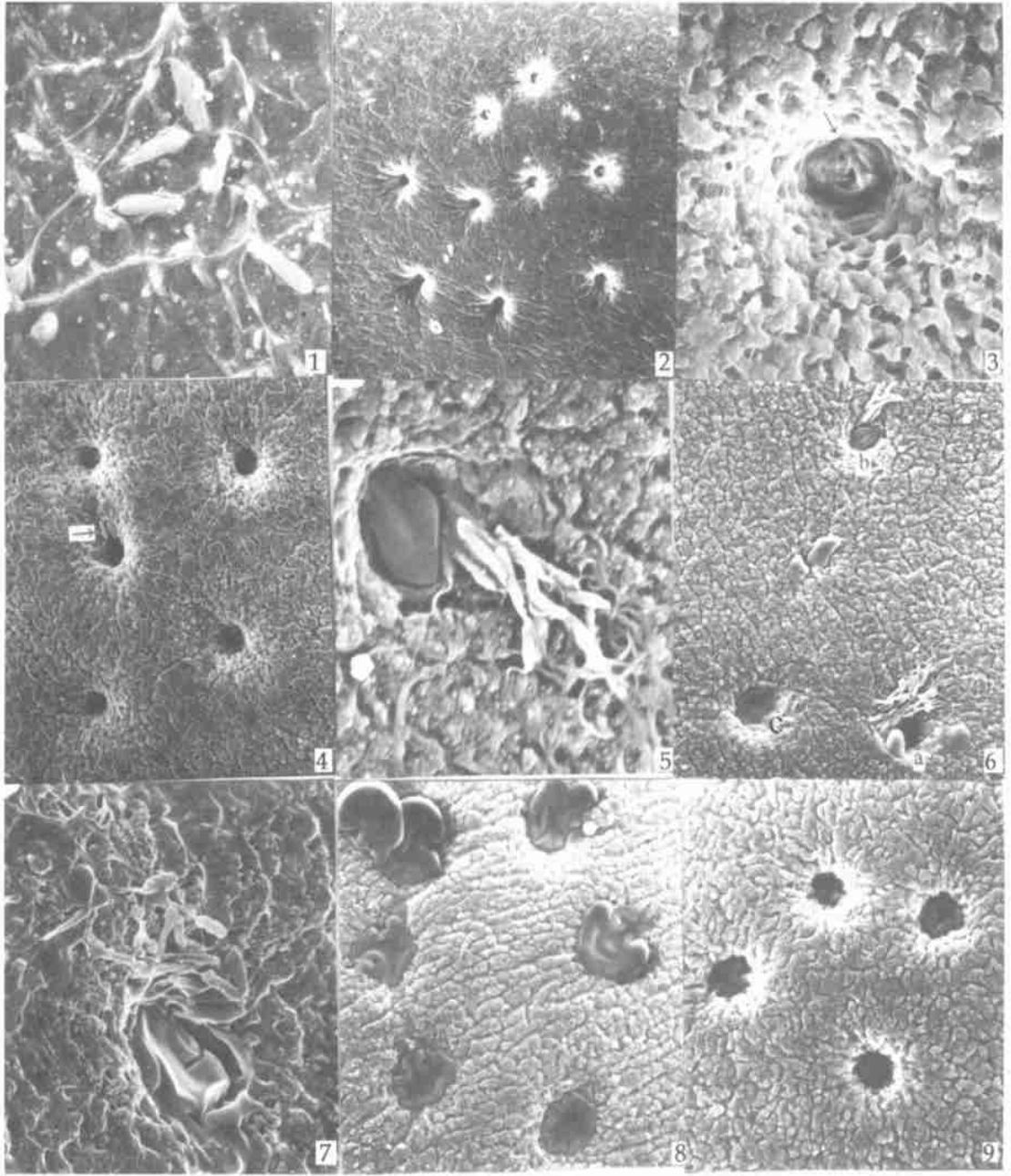
中华鲟成熟卵的极斑上有 9~ 15 个受精孔^[8],史氏鲟成熟卵的受精孔不超过 10 个。中华鲟受精孔未曾见到精孔细胞,所有受精孔都为精子入卵敞开门户^[8]。史氏鲟的受精孔在扫描电镜下可见被花蕾样卷状物堵塞,在授精后 10s 堵塞物消失,精子入卵后精孔内有一花瓣膜挡住受精孔,阻挡多余精子入卵,同时瓣膜增大塞满受精孔。中华鲟受精后并无其它物质堵塞受精孔,只见一团精子尾部缠绕成网状,堵塞着受精孔^[8]。Doroshov^[9]报道,高首鲟对多精受精特别敏感,胚胎易致畸形,可见高首鲟是单精受精。并已有研究报导,闪光鲟成熟卵受精后会分泌一种浑浊液体进入卵周隙中,阻隔多余精子入卵。

3.3 史氏鲟卵膜的外层结构

与中华鲟卵膜结构相同^[8],史氏鲟卵膜 3 层结构的最外层放射膜,保证了卵受精后吸水膨胀卵膜的坚固性,受精后分泌粘液与其它物体粘连时,卵黄外膜不受损伤。

参考文献:

- [1] Bemis W E, Finkbeiner E K. The sturgeon's plight[J]. Nature, 1994, 370: 602- 602.
- [2] Birstein V J. Sturgeon and paddlefishes: threatened fishes in need of conservation[J]. Conservation Biology, 1993, 7(4): 773- 787.
- [3] Riehl R, Götting K J. Zu struktur and vorkommen der micropyle an eizellen und eiern von knochenfischen (Teleostei) [J]. Arch Hydrobiol, 1974, 74: 393- 402.
- [4] Sun H L, Fang J G, Wang Q Y, et al. Ultrastructure of the spermatozoon of *Tegillaea granosa* [J]. J Fish China, 2000, 24 (2): 104- 107. [孙慧玲, 方建光, 王清印等. 泥蚶受精过程的细胞学荧光显微观察[J]. 水产学报, 2000, 24(2): 104- 107.]
- [5] Brummett A B, Dumont J N. Initial stages of sperm penetration into the egg of *Fundulus heteroclitus* [J]. Exp Zool, 1979, 210: 417- 434.
- [6] Iwamatsu T, Ohta T. Scanning electron microscopic observations on sperm penetration in teleostean fish [J]. Exp Zool, 1981, 218: 261- 277.
- [7] Yin H B, Sun Z W, Pan W Z. Scanning electron microscopic observation on sperm penetration of *Silurus soldatovi* egg [J]. J Fish Sci China, 2000, 7(2): 1- 4. [尹洪滨, 孙中武, 潘伟志. 索氏六须鲟受精早期精子入卵的扫描电镜观察[J]. 中国水产科学, 2000, 7(2): 1- 4.]
- [8] Xu Y, Xiong Q M. The process of fertilization of *Acipenser sinensis* Gray observed by SEM [J]. Acta Zool Sin, 1988, 34 (4): 325- 328. [许雁, 熊全沫. 中华鲟授精过程扫描电镜观察[J]. 动物学报, 1988, 34(4): 325- 328.]
- [9] Doroshov S I. Artificial propagation of the white sturgeon *Acipenser transmontanus* Richardson [J]. Aquac, 1983, 32: 93- 104.



图版说明 Explanation of Plate

1. 精子形态; 2. 多个受精孔; 3. 精孔细胞, 卵膜最外层放射膜呈蜂窝状(↗示精孔细胞); 4. 受精后 10s 堵塞消失, 精子已达到受精孔(↗示精子); 5. 示精子进入受精孔, 受精孔内有瓣膜; 6. 示 3 种状态的受精孔, 敞口 a(精子正在入卵), 半封 b(瓣膜出现), 全封 c; 7. 被阻挡在受精孔外的精子, 精孔封口形态; 8. 精孔完全封住; 9. 精孔膜收缩到精孔内

1. sperm shape; 2. many micropyles; 3. micropyle cell and out radiate membrane (↗ micropyle cell); 4. micropyle cell disappears after fertilization 10 s and sperms get to micropyle (↗ sperm); 5. sperm penetration egg and membrane appearing; 6. three states of micropyle, micropyle opening (sperm penetration) a, half opening (membrane appearing) b, sealing c; 7. sperms not penetrating egg blocked the way and sealed micropyle; 8. micropyles are sealed with membrane; 9. membrane contracts into micropyle