



孙振兴

海洋贝类文选

Selected Marine Malacological
Works of SUN Zhen-Xing

孙振兴 著



海洋出版社

孙振兴海洋贝类文选

孙振兴 著

海洋出版社

2015 年 · 北京

内容简介

本书收录了有关海洋经济贝类的研究论文、报告、综述等 30 余篇, 涉及贝类的繁殖与发育、多倍体与杂交育种、染色体、组织培养、群体遗传、环境毒理以及贝类种质资源保护与评价等方面。

本书是将分散发表在国内各种学术期刊上的文章汇集成册, 便于读者从不同视角系统了解上述领域中贝类学研究的概况、理论与方法、研究结果及其产生的背景等。

本书可供从事海洋贝类、水产养殖教学的高等院校师生以及科研、管理机构的相关人员阅读参考。

图书在版编目 (CIP) 数据

孙振兴海洋贝类文选/孙振兴著. —北京: 海洋出版社, 2015. 12

ISBN 978 - 7 - 5027 - 9328 - 9

I. ①孙… II. ①孙… III. ①海洋生物 - 贝类 - 文集 IV. ①Q959.215 - 53

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 298265 号

责任编辑: 白 燕 王 溪

责任印制: 赵麟苏

海洋出版社 出版发行

<http://www.oceanpress.com.cn>

北京市海淀区大慧寺路 8 号 邮编: 100081

北京朝阳印刷厂有限责任公司印刷 新华书店北京发行所经销

2015 年 12 月第 1 版 2015 年 12 月第 1 次印刷

开本: 787 mm × 1092 mm 1/16 印张: 16

字数: 370 千字 定价: 70.00 元

发行部: 62132549 邮购部: 68038093 总编室: 62114335

海洋版图书印、装错误可随时退换

目 次

第一部分 繁殖与发育

皱纹盘鲍卵的形态与超显微结构	(3)
皱纹盘鲍受精过程的电镜观察	(11)
扁玉螺的生殖腺组织学和生殖周期	(19)
扁玉螺早期发育的实验观察	(27)

第二部分 多倍体与杂交

人工诱导皱纹盘鲍三倍体的研究	(37)
皱纹盘鲍三倍体生长的初步研究	(42)
皱纹盘鲍三倍体诱导条件及其室内饲育试验	(48)
人工四倍体皱纹盘鲍的发生	(55)
细胞松弛素 B 对鲍受精卵超微结构的影响	(64)
日本大鲍与皱纹盘鲍杂交的研究	(70)
皱纹盘鲍与盘鲍杂交效果分析	(76)

第三部分 染色体

三种海产帘蛤目贝类的核型研究	(85)
中国海洋贝类染色体研究进展	(94)
两种双壳贝类染色体的观察研究	(104)
聚类分析在双壳贝类染色体研究中的应用	(109)

第四部分 组织培养

菲律宾蛤仔鳃组织的原代培养	(117)
菲律宾蛤仔外套膜组织原代培养的初步研究	(122)
中国蛤蜊的组织培养	(126)
几个因素对菲律宾蛤仔组织培养的影响	(131)
金属离子对皱纹盘鲍组织培养的影响	(139)
体外培养菲律宾蛤仔外套膜细胞的增殖	(145)

第五部分 群体遗传

皱纹盘鲍遗传多样性的 RAPD 分析	(153)
用微卫星标记分析皱纹盘鲍群体的遗传变异	(161)
基于 ISSR 标记的扁玉螺自然居群遗传结构	(170)
长竹蛏不同地理居群的遗传多样性	(180)
黄海、渤海扁玉螺表型变异分析	(192)

第六部分 环境毒理

两种水温条件下镉对菲律宾蛤仔的急性毒性	(205)
Cd^{2+} 对中国蛤蜊的急性毒性及 SOD 活性的影响	(212)

第七部分 种质资源

贝类种质资源保护研究进展	(221)
扁玉螺表型性状对体重和软体部重的影响效应分析	(229)
基于数量性状的砂海螂选择指标评估	(239)
附 录	(248)
后 记	(252)

第一部分

繁殖与发育

皱纹盘鲍卵的形态与超显微结构^①

孙振兴, 王如才, 姜明, 刘晓云, 高澜, 范瑞青

(青岛海洋大学, 青岛 266003)

摘要: 用扫描电镜和透射电镜观察了皱纹盘鲍成熟未受精卵和受精卵的形态及超显微结构。皱纹盘鲍的成熟卵无卵极标志, 卵质中含有线粒体、内质网和高尔基复合体等细胞器, 未发现中心粒。皮层中有皮质小泡, 受精后发生皮层反应。在鲍的受精卵中, 线粒体、高尔基复合体和内质网的数量明显减少。在鲍的成熟卵和受精卵中, 均观察到光滑内质网合成脂滴以及脂滴形成卵黄粒的现象。

关键词: 皱纹盘鲍; 成熟卵; 受精卵; 超微结构

皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai*) 主要分布于我国黄渤海以及日本北部、朝鲜半岛沿海, 是名贵的海产珍品, 有着重要的经济价值, 近年来已在我国北方普遍开展了鲍的人工育苗和养殖^[1,2]。

动物雌雄两性生殖细胞的形态结构与受精过程密切相关, 是受精生物学的重要内容之一。迄今为止, 对鲍科软体动物精子的研究虽有一些报道^[3,4], 但对鲍卵的研究报道, 仅限于在光镜水平上对形态的简单描述^[5,6], 而有关鲍卵的超显微结构, 尚未见报道。卵与精子均系遗传载体, 是个体发育的基础, 从某种意义上讲, 卵的发育或更重要。为此, 笔者研究了皱纹盘鲍成熟卵和受精卵的形态及其超显微结构, 以期丰富贝类受精生物学基础理论提供一些资料。

1 材料与方法

1.1 取材

将性腺成熟的雌、雄亲鲍分别放入经紫外线照射过的海水中诱导产卵、排精^[1], 取出少量未受精卵固定, 然后混合授精 (3 ♀ × 3 ♂), 受精卵在 20℃ 海水中发育, 授精后立即取材一次, 以后每隔 1 ~ 5 min 取部分受精卵固定, 取材至授精后

① 本文原载《中国水产科学》, 1997 年 3 月, 第 4 卷第 1 期, 68 - 74 页。

资助项目: 国家“攀登”计划 B 项目子专题 (PD - B6 - 3 - 1)。

80 min 结束。

1.2 样品制备、观察

供透射电镜 (TEM) 观察的样品经 2.5% 戊二醛预固定, 1% 锇酸后固定; 乙醇梯度脱水后, Epon812 环氧树脂浸透包埋; LKB 超薄切片机切片, 切片经醋酸铀和柠檬酸铅双重染色。最后在日立 H-7000 型透射电镜下观察。

供扫描电镜 (SEM) 观察的样品经 2.5% 戊二醛固定; 乙醇梯度脱水后入 100% 醋酸异戊酯中置换; 日立 HCP-2 型临界点干燥仪干燥, IB-3 型离子溅射仪喷金, 最后在剑桥 S-250MK3 型扫描电镜下观察。

2 结果

2.1 成熟未受精卵的形态与超显微结构

皱纹盘鲍排出体外的成熟卵呈圆球形, 在光镜下观察卵膜外是很厚的胶膜 (jelly coat), 透射电镜下可见胶膜内有许多电子密度很低的纤维状细丝, 分布稀疏, 胶膜的内侧与卵膜形成明显的分界 (图 1a-1)。溶去胶膜后的卵, 直径约 160~180 μm , 在扫描电镜下观察, 整个卵的表面光滑而稍有起伏, 动物极与植物极无明显标志 (图 1a-2)。

卵膜 (egg membrane): 位于胶膜内侧, 也称卵黄膜 (vitelline membrane), 可分为三层, 各层的电子密度和厚度不同, 由内向外, 厚度分别为 0.2~0.3 μm , 0.6~1.0 μm 和 0.1~0.15 μm 。内、外两层是由一些极细微的纤维状丝构成, 电子密度较低。中间部分, 电子密度较高, 其中有许多斑点样的泡状小孔 (图 1a-4)。

质膜 (plasma membrane): 即细胞膜 (cell membrane), 位于卵膜之下, 卵膜与质膜之间的空隙称为卵周隙 (perivitelline space), 成熟未受精卵的卵周隙狭窄, 仅为 0.6~1.2 μm (图 1a-1)。鲍排出体外的成熟卵, 其质膜是一层极薄的单层膜。在质膜上有许多长约 0.2~0.8 μm 的细小触手状突起, 向卵周隙内突出, 即为微绒毛 (microvilli)。微绒毛的膜外形成一层黏膜外衣, 微绒毛膜的內面与细胞质相连 (图 1a-4)。

卵核 (egg nucleus): 皱纹盘鲍的成熟卵是处于第一次成熟分裂中期的初级卵母细胞, 在光镜 (LM) 下观察鲍的卵巢切片, 成熟的初级卵母细胞呈圆形、椭圆形等多种形态, 中央有一大而透亮的卵圆形胚泡 (germinal vesicle), 即为卵核 (图 1a-3), 卵核约占整个初级卵母细胞的 2/3, 其长径为 90~100 μm , 短径为 65~75 μm 。在透射电镜下可见核内均匀分布着染色质, 核的边缘呈不规则的伪足状或乳头状的突起, 伸入到细胞质内 (图 1a-5)。另外, 还可观察到在核膜上有间距不等的间隙, 间隙处的核膜两端内外相连形成核孔 (nuclear pore)。卵核与卵质间通过核

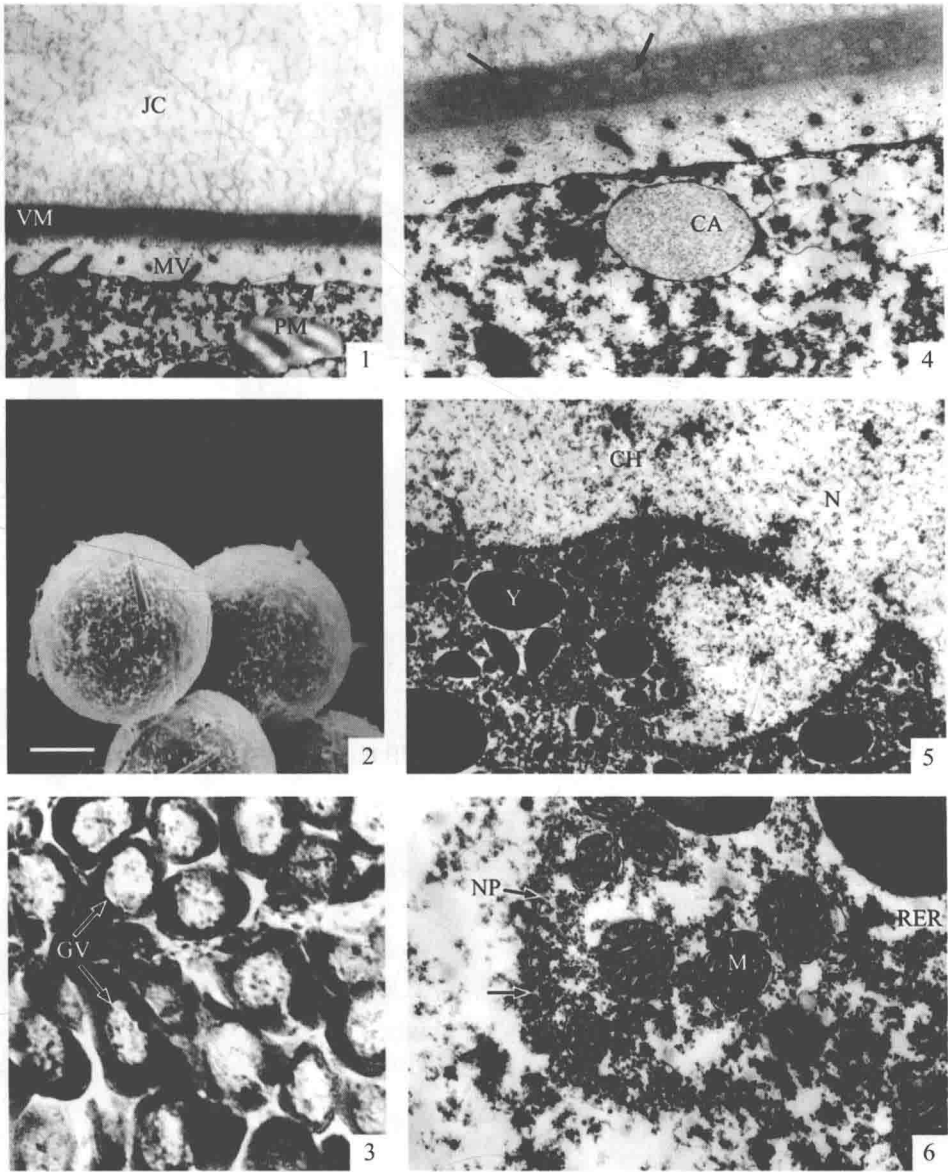


图 1a 皱纹盘鲍卵的形态结构

1. 鲍成熟未受精卵的膜结构, 示胶膜、卵黄膜、质膜以及微绒毛, $\times 6\,500$ (TEM); 2. 溶去胶膜后的鲍卵, $\times 170$ (SEM), 标尺 = $60\,\mu\text{m}$; 3. 成熟的初级卵母细胞, 箭头示胚泡, $\times 100$ (LM); 4. 皮质小泡的一种形态, 箭头示卵膜上的泡状小孔, $\times 13\,000$ (TEM); 5. 卵核边缘呈伪足状突起伸入到胞质中, $\times 4\,000$ (TEM); 6. 核膜附近的线粒体, 箭头示核孔, $\times 22\,500$ (TEM)

JC (jelly coat): 胶膜; VM (vitelline membrane): 卵黄膜; PM (plasma membrane): 质膜; MV (microvilli): 微绒毛; CA (cortical alveoli): 皮质小泡; GV (germinal vesicle): 胚泡; N (nucleus): 卵核; CH (chromatin): 染色质; Y (yolk granules): 卵黄颗粒; M (mitochondria): 线粒体; NP (nuclear pore): 核孔; RER (rough endoplasmic reticulum): 粗面内质网

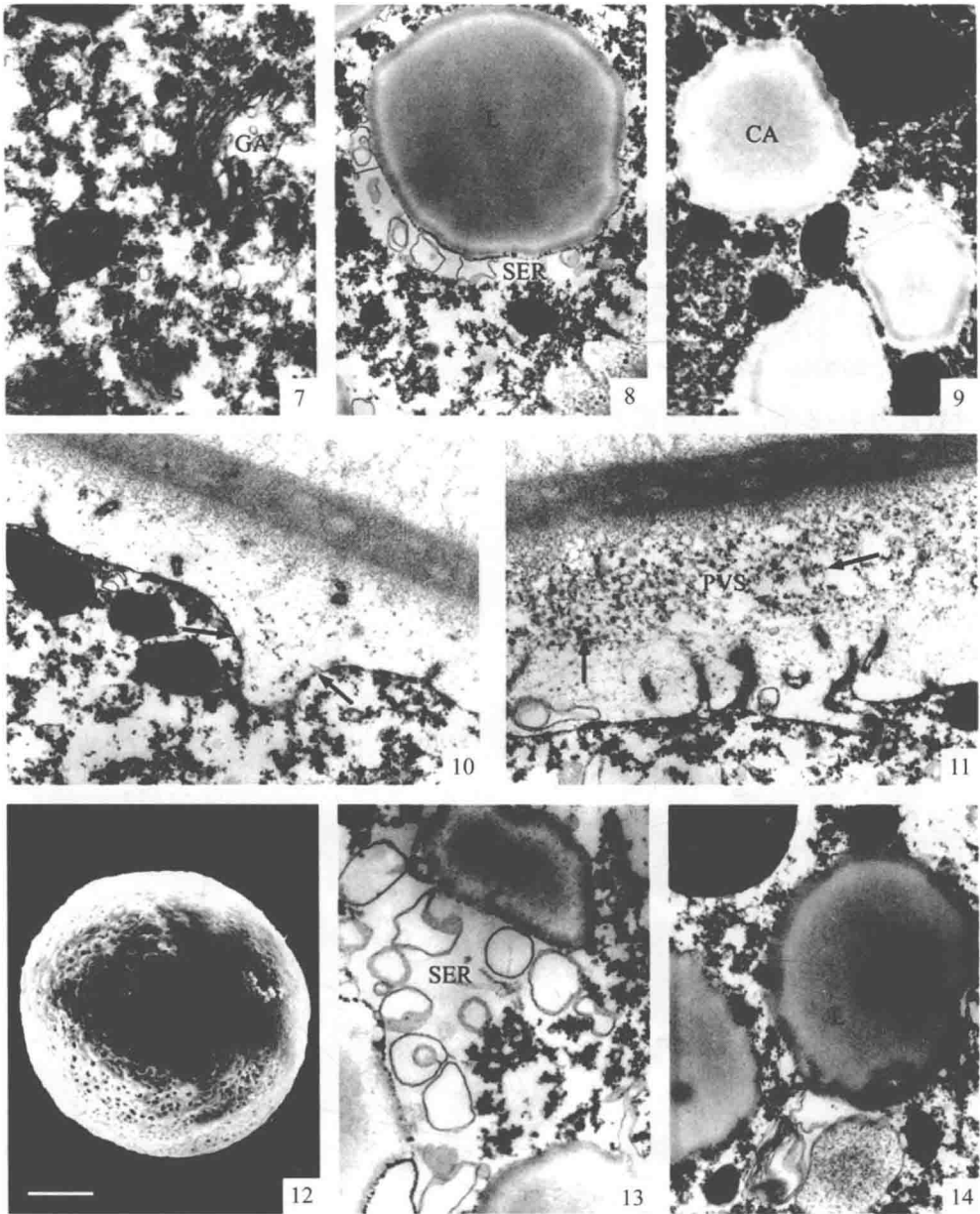


图 1b 皱纹盘鲍卵的形态结构

7. 高尔基复合体, $\times 27\ 000$ (TEM); 8. 分布在脂滴附近的光滑内质网, $\times 10\ 500$ (TEM); 9. 皮质小泡的一种形态, $\times 13\ 600$ (TEM); 10. 箭头处示皮质小泡膜与质膜相融合, $\times 14\ 000$ (TEM); 11. 受精卵的卵周隙加宽, 箭头示皮质小泡破裂后逸出的微小颗粒, $\times 14\ 000$ (TEM); 12. 受精后 2 min, 由于皮质小泡破裂整个卵子表面呈蜂窝状, $\times 250$ (SEM), 标尺 = $40\ \mu\text{m}$; 13. 光滑内质网泡内变为浅灰色, 并相互融合形成脂滴, $\times 17\ 000$ (TEM); 14. 脂滴中央沉积着电子密度较高的物质, $\times 19\ 000$ (TEM)

CA (cortical alveoli): 皮质小泡; L (lipid droplet): 脂滴; GA (Golgi apparatus): 高尔基复合体; SER (smooth endoplasmic reticulum): 光滑内质网; PVS (perivitelline space): 卵周隙

孔,进行物质交换(图1a-6)。

卵质(egg plasma)与细胞器:鲍的成熟卵为均黄卵,卵黄颗粒(yolk granules)均匀分布在整個卵质中。卵黄颗粒的大小不等,小的直径仅 $0.5\text{ }\mu\text{m}$,大的可达 $10\text{ }\mu\text{m}$ 多,其分布区域也略有不同,较小的卵黄颗粒分布在卵的中央部,较大的则分布在卵的外周部。

鲍的卵质中有丰富的线粒体,呈长短轴近乎相等的卵圆形,外膜明显,内膜内褶形成短管状的嵴,线粒体内部充满电子密度较小的基质,基质中含有致密的嗜锇颗粒(图1a-6)。

在卵核的附近,还可观察到由多个扁囊构成的高尔基复合体(Golgi apparatus),扁囊数目为4~8个,呈弓形排列,每一个扁囊是由两层平行的膜构成。在高尔基复合体扁囊的一面,可见数个体积较大的分泌泡;在扁囊的另一面,有许多囊泡紧贴着扁囊的膜(图1b-7)。卵质中还有许多内质网,光滑内质网(smooth endoplasmic reticulum, SER)形状不规则或呈同心圆状,经常分布在脂滴(lipid droplet)附近(图1b-8),这是因为光滑内质网与脂肪的合成有密切关系。粗面内质网(rough endoplasmic reticulum, RER)见于卵核附近,其外表面附有大量核糖体颗粒(图1a-6)。在鲍的成熟卵中,未发现中心粒(centriole)。

在质膜之下,卵质的表层即所谓皮层(cortex)中,还分布着一种单层膜包被的细胞器,即皮质小泡(cortical alveoli),亦称皮层颗粒(cortical granule)。皮质小泡有两种形态:一种小泡的大小在 $1.0\sim4.0\text{ }\mu\text{m}$ 之间,形状不规则,泡内含有中等电子密度的絮状或微细颗粒物质(图1a-4);另一种小泡的大小在 $1.5\sim5.0\text{ }\mu\text{m}$ 之间,形状不规则,泡内为电子明区物质,呈空泡状(图1b-9)。较大的皮质小泡一般靠近质膜,较小的皮质小泡位于距质膜较远的深部。

2.2 受精卵的超显微结构

鲍的受精时间是在初级卵母细胞处于第一次成熟分裂中期,受精后完成两次成熟分裂。有关皱纹盘鲍的受精过程,将在另文专题报道,本文报道受精后卵的变化。

精子入卵之后,卵子发生皮层反应,皮层小泡膜与质膜相融合(图1b-10),在融合处皮层小泡发生胞吐而破裂,其内含的微小颗粒逸出到质膜和卵膜之间的卵周隙中,与卵膜一起参与受精膜的形成,使受精膜举起。卵周隙的宽度扩大至未受精时的数倍(图1b-11)。此时,将受精后2 min的受精卵去除卵膜置于扫描电镜下观察,可看到卵子表面的皮质小泡破裂后留下的空洞而呈蜂窝状(图1b-12)。据初步观察,受精后5 min卵的表面基本修复平整,不再留有空洞。

在鲍受精卵的卵质中,仍有大量大小不一、电子密度深浅不同的卵黄颗粒、脂滴,还有许多核糖体颗粒。线粒体、高尔基复合体和内质网的数量明显减少,但线

粒体、高尔基复合体等细胞器的结构，与受精前相比并无明显变化。

在鲍的成熟卵和受精卵中，均可观察到一些光滑内质网泡内逐渐变为浅灰色，并相互融合（图 1b-13），最后形成无定形膜包裹的脂滴。同时还可见到部分脂滴中央逐渐沉积电子密度较高的物质（图 1b-14），这种脂滴进一步发育就成为脂质卵黄粒（lipoprotein yolk）。

3 讨论

从上述结果看，皱纹盘鲍的成熟卵和受精卵的超微结构，与其他动物基本一致^[7,8]，但在卵子发育的不同阶段，细胞器的数量有所变化。软体动物的卵母细胞在发生过程中，由于线粒体、内质网和高尔基复合体等多种细胞器都参与卵黄的形成，因此在观察卵子发生时，可见到以多种形式存在的各种细胞器^[9,10]。当卵母细胞发育到可受精的成熟卵阶段，由于卵子内储存了大量的卵黄颗粒，所以卵质中的细胞器，特别是内质网和高尔基复合体的数量大大减少^[10]。笔者在观察中发现，鲍成熟卵中的内质网和高尔基复合体数量很少，而在受精卵中则更少。这种现象可能与卵黄的合成有关，以适应卵子自身和早期胚胎进一步发育的能量需要。与大多数双壳贝类的受精卵在受精后 24 h 左右即可发育为能主动摄取外源食料的 D 形幼虫相比，鲍的受精卵在受精 72 h 后才发育为能摄取外源食料的匍匐幼虫，而在此之前，则完全靠自身的卵黄颗粒营养^[1]，因此对鲍而言，卵子中卵黄的合成更具有重要意义。

一般认为光滑内质网与脂类或脂蛋白合成有关^[11]，本文观察到的光滑内质网形成脂滴，可以充分证明这一点，脂滴形成卵黄在双壳类卵子发育中已有报道^[10]，笔者认为，这种光滑内质网形成脂滴以及脂滴形成卵黄的现象不是孤立的，二者之间有一定的联系，可能是光滑内质网通过脂滴这一中间形式，最终转变为卵黄粒，这也是鲍的卵子合成卵黄的途径之一。

此外，粗面内质网、高尔基复合体、线粒体都参与卵黄的合成，这也可能是导致卵子中上述细胞器数量减少的原因。虽然在文昌鱼成熟卵和受精卵的卵质中有丰富的线粒体、高尔基复合体及内质网等细胞器^[7]，但本文的观察结果也许表明无脊椎动物与脊椎动物在卵子发育上有一定的差异。

关于皮质小泡，一般认为在软体动物中，皮质小泡可见于双壳类，而不见于腹足类^[12]。试验中发现，鲍的成熟卵中确实存在着皮质小泡。虽然鲍是一种原始腹足类，但无论从卵子发生还是繁殖方式，都与双壳类更为相似，而与高等腹足类有很大差异，因此卵质中的细胞器可能更接近双壳类。皮质小泡是在卵子发生过程中由高尔基复合体形成的^[12]，本文观察到鲍的皮质小泡有两种形态，第二种形态的皮质小泡（图 1b-9）可能是高尔基复合体参与形成早期的一种过渡形态，说明两种形态的皮质小泡有着内在联系。

无脊椎动物受精过程中受精膜的形成,海胆是皮质小泡以胞吐方式释放透明素物质^[13];中华绒螯蟹是皮质小泡破裂后释放出来的颗粒小体与卵膜内层结合形成受精膜^[14]。本文观察皱纹盘鲍卵的受精膜形成过程,与上述研究结果大致相同。

参考文献

- [1] 王如才,王昭萍,张建中. 海水贝类养殖学 [M]. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1993: 331-359.
- [2] 孙振兴. 室内养殖皱纹盘鲍若干问题探讨 [J]. 海洋科学, 1994, (5): 6-9.
- [3] Lewis C A, Talbot C F, Vacquier V D. A protein from abalone sperm dissolves the egg vitelline layer by a nonenzymatic mechanism [J]. Developmental Biology, 1982, 92 (1): 227-239.
- [4] Shiroya Y, SaKai Y T. Ultrastructural changes of the "Truncated cone" during the acrosome reaction in Japanese abalone spermatozoa [J]. Development, Growth and Differentiation, 1984, 26 (1): 25-32.
- [5] 猪野峻. 邦産アワビ属の増殖に関する生物学的研究 [J]. 東海区水産研究所研究報告, 1952, (5): 1-102.
- [6] 陈木, 卢豪魁, 陈世杰, 等. 皱纹盘鲍人工育苗的初步研究 [J]. 动物学报, 1977, 23 (1): 35-46.
- [7] 陈大元, 宋祥芬, 赵学坤, 等. 文昌鱼受精机理研究——受精卵的超显微结构 [J]. 动物学报, 1991, 37 (4): 422-426.
- [8] 堵南山, 赖伟, 南春容, 等. 中华绒螯蟹成熟卵形态和超微结构的研究 [J]. 动物学报, 1995, 41 (3): 229-234.
- [9] 林加涵, 汪德耀. 僧帽牡蛎卵母细胞卵黄发生的超微结构研究 [J]. 厦门大学学报 (自然科学版), 1983, 22 (3): 355-363.
- [10] 沈亦平, 张锡元. 合浦珠母贝卵子发育的超微结构研究 [J]. 武汉大学学报 (自然科学版), 1993, (5): 101-108.
- [11] 汪德耀. 普通细胞生物学 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1988: 133-208.
- [12] 丁汉波, 仝允栩, 黄浙. 发育生物学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1987: 66-149.
- [13] Endo Y. Changes in the cortical layer of sea urchin eggs at fertilization as studied with the electron microscope; I. *Clypeaster japonicas* [J]. Experimental Cell Research, 1961, 25 (2): 383-397.
- [14] 堵南山, 赖伟, 安婴, 等. 中华绒螯蟹受精的细胞学研究 [J]. 中国科学 (B 辑), 1992, (3): 260-265.

Morphology and ultrastructure of egg of *Haliotis discus hannai*

Sun Zhenxing, Wang Rucai, Jiang Ming, Liu Xiaoyun,
Gao Lan, Fan Ruiqing

(*Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003*)

Abstract: The morphology and ultrastructure of the mature unfertilized eggs and fertilized eggs of the abalone (*Haliotis discus hannai*) were studied with scanning electron microscope (SEM) and transmission electron microscope (TEM). The sign of egg pole in the unfertilized abalone eggs are absent. The egg plasm of unfertilized abalone eggs possesses mitochondria (M), endoplasmic reticulum (ER) and Golgi apparatus (GA) etc. Centriole not been found. Cortexes possess cortical alveoli. Cortical reactions have taken place after fertilization. In the fertilized abalone eggs, quantities of the M, GA and ER evidently reduced. In the fertilized abalone eggs, quantities of the M, GA and ER evidently reduced. In the mature unfertilized eggs and fertilized eggs of the abalone, it is observed that the smooth ER synthesizes the lipid droplet and the lipid droplet forms lipoprotein yolk.

Key words: *Haliotis discus hannai*; mature egg; fertilized egg; ultrastructure

皱纹盘鲍受精过程的电镜观察^①

孙振兴¹, 王如才¹, 姜明¹, 刘晓云¹, 谢嘉琳²

(1. 青岛海洋大学, 青岛 266003; 2. 中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

摘要: 用透射电镜观察了皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai* Ino) 的受精过程。鲍卵子的胶膜使精子活化, 并诱发了顶体反应, 卵黄膜使顶体反应达到高潮。精子入卵后, 卵发生皮层反应形成受精膜, 并开始减数分裂。此外, 还观察到鲍的多精入卵现象。

关键词: 皱纹盘鲍; 受精; 顶体反应; 透射电镜

用电子显微镜观察水生动物的受精形态, 在鱼类已有丰富的资料 (Brummett et al, 1979; Iwamatsu et al, 1981; 王瑞霞等, 1982, 1984; 许雁等, 1988; 黄永松, 1990), 但在无脊椎动物仅限于海胆 (Lopo et al, 1980, 1981) 和蟹类 (堵南山等, 1992)。皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai* Ino) 属原始腹足类、鲍科, 主要分布于我国黄渤海以及日本北部、朝鲜半岛沿海, 是我国北方重要的经济贝类之一。有关皱纹盘鲍的繁殖习性、胚胎及胚后发育、人工培育苗种等方面, 已有较详尽的研究报道 (猪野峻, 1952; 陈木等, 1977; 王如才等, 1980; 聂宗庆, 1989), 但有关受精过程的亚显微观察, 迄今尚未见报道。本文用透射电镜对皱纹盘鲍的受精过程进行了观察, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 试验材料

将皱纹盘鲍性腺成熟的雌、雄亲鲍分别排放的卵子、精子混合授精。授精时立即取材一次, 授精后从 1 s ~ 60 min 每隔一定时间, 分批取材固定。

1.2 样品制备、观察

供透射电镜观察的样品, 用 2.5% 戊二醛和 1% 锇酸双固定, 乙醇系列脱水,

① 本文原载《动物学研究》, 1997 年 8 月, 第 18 卷第 3 期, 253 - 257 页。

资助项目: 国家“攀登”计划 B 项目子专题 (PD - B6 - 3 - 1)。

Epon 812 包埋,“LKB”型超薄切片机切片,醋酸铀-柠檬酸铅染色,日立“H-7000”型透射电镜观察。

2 结果和讨论

2.1 精子顶体反应时的形态变化

顶体反应前鲍的精子头部形态如图所示(图1-1a),精子前端有一帽状顶体,即顶体帽(acrosome cap),后面为精核(sperm nucleus),核的前端有一杯状的凹陷,即为顶体下窝(acrosome fossa)。此时整个精子头部长约 $1.5\text{ }\mu\text{m}$,最大处直径为 $0.9\sim 1.0\text{ }\mu\text{m}$ 。精子中段由数个线粒体构成(图1-2)。精子尾部鞭毛的横切面呈圆形,直径为 $0.22\sim 0.25\text{ }\mu\text{m}$,外周有质膜包围,其微管的横切面是典型的“9+2”结构(图1-1b)。鲍的成熟未受精卵表面是一层极薄的质膜(plasma membrane),围绕其外的是卵黄膜(vitelline membrane),卵黄膜的外围是很厚的胶膜(jelly coat),胶膜是由一些不定形物质和分布稀疏的纤维状细丝所组成(图1-2)。

在光镜下观察,鲍排放到海水中的成熟精子,在与卵子相遇前只是无目标的漫游;一旦与卵子的胶膜相接触,便被胶膜所吸附。在透射电镜下观察,当精子进入卵的胶膜时,顶体逐步向前突出(图1-2),随着精子接近卵黄膜,顶体明显伸长(图1-3),形成顶体突起(acrosoma process)。当顶体突起的顶端接触到卵黄膜时,精子头部伸至最长,其中顶体突起的长度约占整个精子头部长度的 $1/3$ (图1-4)。此时顶体反应达到高潮,精子穿过卵黄膜到达卵的质膜(图1-5),进入卵内。

由此可见,在鲍的顶体反应过程中,卵子的胶膜激活了精子,并诱发了顶体反应;卵黄膜使顶体反应达到高潮。这是由于胶膜中含有与卵黄膜的受体蛋白相类似的物质(也可能是卵黄膜上的物质扩散到了胶膜),这种物质有专一的专一性,能激活鲍的精子使其与卵子在海水中相互识别,并使精子改变漫游而迅速游近卵黄膜。这与海胆受精时的顶体反应(Lopo et al, 1980)是非常相似的。

另外,本研究中还发现,鲍排出体外无胶膜的卵,是不能受精的,这也说明鲍卵的胶膜对其受精是必不可少的。这与两栖类蛙卵一定要包有胶膜才能受精(丁汉波等, 1987)是一致的。

2.2 受精膜的形成

鲍的精子进入卵子之后,卵子发生皮层反应。位于鲍卵子皮层中的皮质小泡(cortical alveoli, 亦称皮层颗粒)破裂,其内含的微小颗粒物逸出到质膜与卵黄膜之间,引起卵黄膜膨胀,并与卵黄膜共同形成受精膜(fertilization membrane)。受精膜与质膜之间的间隙为卵周隙(perivitelline space)。除了皮质小泡参与受精膜的形成外,本研究还观察到精子入卵后,卵子质膜上的许多微绒毛与质膜呈垂直方向拉长,