

# 三疣梭子蟹精卵相互作用的扫描电镜观察<sup>\*</sup>

朱冬发<sup>\*\*</sup> 王春琳 薛良义 余红卫

宁波大学生命科学与生物工程学院, 浙江宁波 315211

**摘要** 应用扫描电镜技术观察了三疣梭子蟹的精卵相互作用。未受精成熟卵表面较光滑、无受精孔, 但有许多微孔。成熟卵外被卵膜, 内为卵母细胞。在卵自然产出后, 精子迅速发生顶体反应使顶体囊外翻并压入卵膜, 而核仍留于卵膜外, 核辐射臂不收缩且仍附着于卵膜上。三疣梭子蟹为多精着卵和多精入卵膜。精子外翻顶体囊压入卵膜后, 核辐射臂陆续回缩直至消失。作用于顶体丝上的卵母细胞主动拖精作用对入卵膜精子的进一步入卵、受精至关重要, 环状卵膜突起的向心伸展也有一定的协助作用。探讨了着卵精子的顶体反应、精子入卵膜的机制及卵子在精子入卵过程中的作用 [动物学报 52 (1): 196–201, 2006]。

**关键词** 三疣梭子蟹 精卵相互作用 扫描电镜技术

## Observation on the sperm-egg interaction of *Portunus trituberculatus* by scanning electron microscopy<sup>\*</sup>

ZHU Dong-Fa<sup>\*\*</sup>, WANG Chun-Lin, XUE Liang-Yi, YU Hong-Wei

Faculty of Life Science and Biotechnology, Ningbo University, Ningbo 315211, Zhejiang, China

**Abstract** The sperm-egg interaction of the swimming crab *Portunus trituberculatus* was observed in detail by scanning electron microscopy (SEM). The unfertilized mature egg is nearly spherical in form and about 300  $\mu\text{m}$  in diameter. The mature egg is composed of two parts, the oocyte and the egg envelope. There are a large number of micropores on the smooth surface of the egg, and no micropyle is found. The nonflagellated and nonmotile sperm of *Portunus trituberculatus* attaches itself to the egg envelope randomly by its radial arms of nucleus, and undergoes the acrosome reaction immediately after natural ovulation. The acrosome reaction is induced by some excretion of the egg. Usually, a large number of sperms attach themselves to the surface of a single egg, and some of them can penetrate the egg envelop by acrosome reaction. During the sperm penetration of egg envelope, the everted acrosomal vesicle initially enter the egg envelope. The nuclear dish contracts, crumples its outer membrane, and often shows a central concave caused by the forward ejection of perforatorium and the subsequent reversal of acrosomal vesicle membrane. The attached radial arms don't undergo withdrawal, and stay on the egg surface with the nucleus. Some attached sperms can also undergo acrosome reaction, but fail to penetrate the egg envelope, apparently because they are improperly oriented. Only after the everted acrosomal vesicle has penetrated the egg envelope do the radial arms undergo withdrawal and the nucleus subsequently enter the egg envelop. During the penetration of egg envelope by sperm nucleus, the ring-like projection of egg envelope formed around the nucleus progressively extends to the center. And when the sperm nucleus has penetrated the egg envelope completely, a penetration pore is left on the egg surface. The traction of oocyte is essential for the nucleus penetration of egg envelope, though the nucleus penetration of egg envelope is also thought to be aided by the centripetal extension of the projection of egg envelope. The acrosome reacted sperms that can't penetrate the egg envelope for improper orientation have finally been incorporated by the egg envelope, and a scar-like mark is left on the egg surface. The acrosome reaction of attached sperm, the mechanism of sperm penetration of egg envelope and the action of egg during the sperm penetration of egg are also discussed in this paper [Acta Zoologica Sinica 52 (1): 196–201, 2006].

**Key words** Swimming crab, *Portunus trituberculatus*, Sperm-egg interaction, Scanning electron microscopy

---

2005-07-15 收稿, 2005-10-29 接受

\* 国家自然科学基金 (No.40576068)、浙江省自然科学基金 (No.301213)、浙江省重大科技攻关项目 (No.2004C12029) 和宁波市青年基金 (No.2004A620014) 资助 [This research was funded by the grants from National Natural Science Foundation of China (No.40576068), Zhejiang Provincial Natural Science Foundation (No.301213), Grand Science and Technology Project of Zhejiang Province (No.2004C12029) and Scientific foundation for Youths of Ningbo City (No.2004A620014)]

\*\* 通讯作者 (Corresponding author). E-mail: zhudongfa@nbu.edu.cn.

© 2006 动物学报 Acta Zoologica Sinica

十足目甲壳动物因精子无鞭毛、不运动 (Chow and Sandifer, 2001), 难以捕获正在产卵的雌体 (Talbot et al., 1991), 而且卵子又富含卵黄、不易制片 (Du et al., 1993) 等原因, 其精卵相互作用的研究与其它精子具鞭毛、能运动的动物相比报道较少, 受精机制则更未得到很好阐明 (Wang et al., 1998)。在蟹类中所进行的研究表明, 对精卵相互作用进行细致的亚显微观察必将有助于人们深刻理解精子入卵的方式和机制 (Brown, 1966; Hinsch, 1971; Goudeau, 1982; Medina, 1992; Du et al., 1993; 康现江等, 2000)。

三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*) 是我国重要的大型海产经济蟹类, 取自该种雌蟹纳精囊内的成熟精子呈陀螺形 (宽端直径约  $3.0\text{ }\mu\text{m}$ 、高约  $2.3\text{ }\mu\text{m}$ ), 无鞭毛, 不运动; 由顶体、精子核和 5–10 条核辐射臂构成 (朱冬发等, 2004)。朱冬发等 (2004) 用离子载体 A23187 和卵水人工诱导三疣梭子蟹游离精子发生顶体反应, 并将顶体反应过程划分为头帽鼓起、顶体囊外翻、穿孔器前伸和顶体丝形成等四个阶段。与精子顶体反应起始于核辐射臂收缩的美味优游蟹 (*Callinectes sapidus*) (Brown, 1966)、中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) (堵南山等, 1987) 和锯缘青蟹 (*Scylla serrata*) (王艺磊等, 2001) 明显不同, 三疣梭子蟹精子核辐射臂直到顶体反应最后阶段才开始收缩。美味优游蟹、中华绒螯蟹和锯缘青蟹精卵相互作用的研究表明, 着卵精子顶体反应过程中核辐射臂的行为与游离精子基本一致 (Brown, 1966; Du et al., 1993; 康现江等, 2000)。那么, 三疣梭子蟹自然受精过程中着卵精子核辐射臂的行为又如何? 顶体反应在蟹类精子入卵过程中起着至关重要的作用, 那么除诱导精子发生顶体反应 (Brown, 1966; Du et al., 1993; 康现江等, 2000) 外, 卵子在精子入卵过程中究竟还有何作用? 此外, 十足目甲壳动物精子入卵过程中是否存在溶素的酶解作用尚存争议 (Brown, 1966; Hinsch, 1971; Lynn and Clark, 1983; Talbot et al., 1991; Rios and Barros, 1997; 康现江等, 2001)。本文利用扫描电镜技术 (Scanning Electron Microscopy, SEM) 对三疣梭子蟹精卵相互作用进行细致的观察, 并就上述问题开展探讨, 旨在为深入研究三疣梭子蟹精子入卵机制和日后开展其遗传育种研究提供理论基础。

## 1 材料与方法

实验用红膏蟹购自浙江象山石浦港, 于 3 月 –

5 月间充气暂养于水泥池中, 池底铺沙, 每日投喂贝类。昼夜观察雌蟹产卵状况, 共捕获 4 只正在产卵的雌体。取样、固定始于刚从雌性生殖孔产出的卵, 取样时间间隔从 1 min 到 5 min 不等。

游离的未受精成熟卵取自刚开始产卵的雌蟹卵巢; 精子悬浮液的制备参见朱冬发等 (2004) 的方法。

所取样品用 3% 戊二醛 (过滤海水配制) 前固定, 1% 铁酸后固定, 浓度梯度的酒精系列脱水, 再入丙酮和醋酸异戊酯, HCP-2 型临界点干燥器干燥, 粘台, Eiko IB-5 型离子溅射仪喷金, Stereoscan 260 型扫描电镜观察、摄影。

## 2 结 果

### 2.1 成熟卵子的形态

取自刚开始产卵的三疣梭子蟹卵巢的游离、未受精成熟卵呈近圆球形, 直径约  $300\text{ }\mu\text{m}$  (图版 I : 1)。成熟卵子外被厚约  $1.78\text{ }\mu\text{m}$  的卵膜 (EE), 内为直径约  $250\text{ }\mu\text{m}$  的卵母细胞 (O), 卵膜与卵母细胞质膜之间的空隙特称卵周隙。取材过程中, 少数成熟卵卵膜破裂, 卵母细胞得以显现 (图版 I : 2)。因卵母细胞所处位置的不同, 刚产出的成熟卵子卵周隙 (宽度一般为  $20\text{--}30\text{ }\mu\text{m}$ ) 宽窄不一, 有些呈椭球形的卵子其卵周隙最宽处甚至可达  $90\text{ }\mu\text{m}$ 。卵子表面 (即卵膜外表面) 较光滑, 无受精孔 (图版 I : 1), 但有许多微孔 (MP) (图版 I : 7)。

### 2.2 精子着卵和精子入卵

三疣梭子蟹在游离成熟卵通过输卵管产出的同时也将储存在纳精囊内的精子排出, 成熟精、卵在输卵管后段接触, 精子藉核辐射臂着卵。所以, 刚从雌性生殖孔产出的卵即为许多精子所随机附着 (图版 I : 5, 10)。三疣梭子蟹为多精着卵。在采集到的三疣梭子蟹自然产出卵的表面, 本实验没能观察到未发生顶体反应的着卵精子, 也没能观察到处于顶体反应前两个阶段 (即头帽鼓起阶段和顶体囊外翻阶段) 的精子。为此, 我们观察了游离精子在盖玻片上的状态。图版 I : 3 示一个顶体朝向盖玻片的精子。可见, 凸盘状精子核的表面较光滑, 其一侧为近球形顶体所撑起; 8 条长短不一 ( $2.6\text{--}7.2\text{ }\mu\text{m}$ ) 的核辐射臂完全或部分 (也因为顶体的支撑所致) 地贴附于盖玻片表面。

虽然精子都是通过核辐射臂随机着卵, 但是着卵时精子顶体的朝向各有不同。正向附着 (顶体朝

向卵膜)的精子在卵子分泌物的激诱下发生顶体反应并通过顶体反应使外翻顶体囊压入卵膜(图版 I : 4); 反向附着的精子(图版 I : 5, 箭头所示)和侧向附着的精子(图版 I : 6, 箭头所示)虽然也能受激诱发生顶体反应并分别处于顶体反应第三阶段即穿孔器前伸、外翻囊完全形成和第四阶段即顶体囊膜脱落、顶体丝形成, 但都无法入卵膜。着卵精子核辐射臂在精子顶体囊通过顶体反应外翻并压入卵膜的过程中并不收缩, 而与精子核一起留于卵膜外、紧贴于卵膜上(图版 I : 4); 另外, 正向着卵精子通过顶体反应使外翻顶体囊压入卵膜后, 其光滑的凸盘状精子核转变为皱褶的、中央微凹的盘状精子核(比较图版 I : 3 和 4)。核辐射臂的不收缩及精子核中央微凹的出现表明入卵膜精子正处于顶体反应第三阶段, 即穿孔器前伸、顶体囊膜完全翻转阶段。因此, 三疣梭子蟹着卵精子通过顶体反应入卵膜的实质是: 快速前冲的穿孔器带动顶体囊膜翻转, 并使外翻囊压入卵膜。三疣梭子蟹为多精入卵膜(图版 I : 7, 10)。

着卵精子通过顶体反应将外翻囊压入卵膜后, 核辐射臂开始陆续收缩(图版 I : 7b 所示), 直至完全缩入精子核而消失(图版 I : 7a 所示)。核辐射臂收缩后, 盘状精子核逐渐陷入卵膜中(图版 I : 8)。在精子核陷入处周边, 卵膜相应地形成环状卵膜突起。随着时间的推移, 该环状卵膜突起逐渐朝中心方向伸展、掩没精子核, 从而在精子核陷入处形成一个直径约  $10 \mu\text{m}$  的卵膜隆起, 其中央是尚待愈合的精子入卵孔(图版 I : 9)。最终, 卵膜上的精子入卵孔将完全愈合、消失, 卵膜隆起也将恢复原样。斜向附着精子受卵子分泌物的激诱发生顶体反应并使外翻囊压入卵膜后, 可见斜向入卵膜精子(图版 I : 10, 箭头所示)的顶体丝基部发生了弯曲。这表明入卵膜精子的进一步入卵、受精主要系卵母细胞的主动拖精作用所致, 环状卵膜突起的向心伸展仅仅起到一种协助作用。

### 2.3 未能入卵膜的着卵精子的命运

因顶体定位不正而无法通过顶体反应入卵膜的着卵精子或退化, 或在外翻的顶体囊内含物与卵膜的相互作用下逐渐为卵膜所融合、吸纳(图版 I : 11)。有时, 着卵精子顶体囊内含物酶解卵膜的迹象清晰可辨(图版 I : 11, 箭头所示)。最终, 这些精子将被纳入卵膜内, 并在卵表面留下一个笠状疤痕(图版 I : 12)。

## 3 讨 论

### 3.1 着卵精子的顶体反应

卵水能高效诱导三疣梭子蟹精子发生顶体反应(朱冬发等, 2004), 本实验又观察到反向和侧向着卵的精子也能受激诱发生顶体反应(图版 I : 5, 6), 这些都表明精子顶体反应是由卵子分泌的诱导因子所激发。Brown (1966) 最先提出卵膜中含有诱导精子发生顶体反应的因子, Talbot et al. (1991) 则进一步指出卵膜中含有诱导精子顶体反应的物质对于无鞭毛、不运动的爬行亚目精子的入卵至关重要。中华绒螯蟹(Du et al., 1993)和锯缘青蟹(康现江等, 2000)精卵相互作用的研究也表明, 精子的顶体反应是受卵子分泌的一种物质激诱而引起。进一步对该诱导因子进行生化分离和鉴定必将有助于爬行亚目精子顶体反应机制的阐明。

三疣梭子蟹着卵精子顶体反应的过程和形态变化与游离精子(朱冬发等, 2004)基本一致。与人工诱导游离精子发生顶体反应一样, 在自然受精过程中, 三疣梭子蟹着卵精子核辐射臂也是直至顶体反应最后阶段才开始收缩(图版 I : 7)。精子核辐射臂在精子入卵膜过程中的这种不收缩行为也见于唐氏招潮蟹(*Uca tangeri*) (Medina, 1992)。与人工诱导游离精子顶体反应稍有不同的是, 在精子顶体反应的第三阶段, 当精子核受穿孔器快速前伸和顶体囊完全外翻形成的负压影响而由光滑的凸盘状转变为皱褶的凹盘状时, 游离精子的核辐射臂顺势向后伸得笔直(朱冬发等, 2004); 而着卵精子的核辐射臂则依然紧贴于卵膜上(图版 I : 4)。正是核辐射臂的不收缩和紧贴卵膜的行为确保了着卵精子通过顶体反应产生的机械前冲作用的入卵膜功效。

### 3.2 精子入卵膜的机制

罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*) (Lynn and Clark, 1983)和正型动额虾(*Rhynchocinetes typus*) (Barros et al., 1986)精卵相互作用的研究都表明精子溶素的酶解作用在精子入卵膜过程中起着关键作用。这两种虾的精子都无顶体反应, 缺乏机械入卵所需的猛推力, 因此被认为必须依靠溶素的裂解效应入卵膜。Rios and Barros (1997)还进一步检测和分析了正型动额虾精子的类胰蛋白酶, 并认为其参与了精子入卵膜过程。而对于甲壳动物爬行亚目精子入卵膜过程中是否存在溶素的酶解作用, 学者们看法不一。Brown

(1966) 认为可能存在精子溶素的作用; Hinsch (1971) 认为显然存在精子顶体内含物对卵膜的裂解作用; 康现江等 (2001) 认为锯缘青蟹精子顶体具有的碱性蛋白可能有溶解卵膜的作用; Talbot et al. (1991) 则认为形态学上找不到精子溶素酶解卵膜的证据, 且美洲海 蜴 (*Homarus americanus*) 精子入卵膜非常快速 ( $\leq 1$  s), 而酶解卵膜则需要较长的时间。他们进一步认为顶体反应产生的机械作用力足以确保精子入卵; 康现江等 (2000) 认为卵膜溶解和顶体管的冲击力使精子在入卵处打出入卵孔, 顶体管连带核物质先后入卵。与美味优游蟹 (Brown, 1966)、普通滨蟹 (*Carcinus maenas*) (Goudeau, 1982)、美洲海 蜴 (Talbot et al., 1991; Tsai and Talbot, 1993) 和唐氏招潮蟹 (Medina, 1992) 类似, 三疣梭子蟹着卵精子发生顶体反应的速度非常快, 以致于本实验在刚自然产出卵的表面也未能观察到处于顶体反应第一阶段和第二阶段的反应精子。所以, 精子顶体囊内含物对卵膜的酶解作用在三疣梭子蟹精子入卵膜过程中可能不起关键作用, 这方面尚需进一步证实。再则, 三疣梭子蟹精子顶体反应前后其穿孔器的前冲距离约为  $2.5 \mu\text{m}$  (朱冬发等, 2004), 而成熟卵子卵膜的厚度仅约为  $1.78 \mu\text{m}$ , 顶体反应产生的机械前冲作用能确保精子外翻顶体囊压入卵膜, 所以三疣梭子蟹精子入卵膜主要应归功于顶体反应产生的机械前冲作用。

### 3.3 卵子在精子入卵过程中的作用

蟹类精子必须先入卵膜才有可能与卵母细胞发生融合而完成受精作用。三疣梭子蟹着卵精子通过顶体反应入卵膜, 而精子顶体反应又是由卵子分泌的诱导因子所激发。Du et al. (1993) 认为中华绒螯蟹精子入卵膜后顶体管继续伸长而与卵母细胞质膜接触。三疣梭子蟹精子通过顶体反应使顶体囊外翻并压入卵膜后, 其顶体丝已完全形成, 不可能继续伸长。考虑到成熟卵子的卵周隙宽度一般为  $20 - 30 \mu\text{m}$ , 朱冬发等 (2004) 曾预测: 三疣梭子蟹精子与卵母细胞的接触一般情况下非顶体反应所能及, 应另有机制。本实验观察到斜向入卵膜精子 (图版 I : 10, 箭头所示) 的顶体丝基部发生了弯曲, 表明其受到卵内卵母细胞的主动拖拉作用, 正是这种拖拉作用使精子核穿入卵膜和穿越卵周隙。这种主动拖拉作用的细胞学基础及其形成机制尚待进一步阐明。此外, 环状卵膜突起的形成及其向心伸展表明卵膜在精子入卵过程中起到一种积极的协

助作用。这种协助作用也见于中华绒螯蟹 (Du et al., 1993) 和锯缘青蟹 (康现江等, 2000)。综上所述, 卵子在精子入卵过程中有着重要的作用: (1) 分泌诱导因子激发着卵精子发生顶体反应; (2) 卵母细胞主动拖拉入卵膜精子进一步入卵和受精; (3) 卵膜对精子入卵有积极的协助作用。

### 参考文献 (References)

- Barros C, Dupre E, Viveros L, 1986. Sperm-egg interactions in the shrimp *Rhynchocinetes typus*. *Gamete Res.* 14: 171–180.  
 Brown GG, 1966. Ultrastructural studies of sperm morphology and sperm-egg interaction in the decapod *Callinectes sapidus*. *J. Ultrastruct. Res.* 14: 425–440.  
 Chow S, Sandifer PA, 2001. Sperm-egg interaction in the palaemonid shrimp *Palaemonetes vulgaris*. *Fisheries Sci.* 67: 370–372.  
 Du NS, Lai W, An Y, Jiang HW, 1993. Studies on the cytology of fertilization in the Chinese mitten-handed crab *Eriocheir sinensis* (Crustacea, Decapoda). *Sci. China (Series B)* 36 (3): 288–296.  
 Du NS, Lai W, Xue LZ, 1987. Acrosome reaction of the sperm in the Chinese mitten-handed crab *Eriocheir sinensis*. *Acta Zool. Sinica* 33 (1): 8–13 (In Chinese).  
 Goudeau M, 1982. Fertilization in a crab. I. Early events in the ovary, and cytological aspects of the acrosome reaction and gamete contacts. *Tissue Cell* 14: 97–111.  
 Hinsch GW, 1971. Penetration of the oocyte envelope by spermatozoa in the spider crab. *J. Ultrastruct. Res.* 35: 86–97.  
 Kang XJ, Li SJ, Wang GZ, 2000. Observation on the process of sperm penetration into egg of *Scylla serrata* with a scanning electron microscope. *J. Fisheries China* 24 (5): 403–406 (In Chinese).  
 Kang XJ, Li SJ, Wang GZ, Xiang YM, 2001. Distribution of basic proteins of sperm and fertilization in *Scylla serrata*. *Acta Zool. Sinica* 47 (Special Issue): 82–86 (In Chinese).  
 Lynn JW, Clark Jr WH, 1983. A morphological examination of sperm-egg interaction in the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Biol. Bull.* 164: 446–458.  
 Medina A, 1992. Structural modifications of sperm from the fiddler crab *Uca tangeri* (Decapoda) during early stages of fertilization. *J. Crustacean Biol.* 12 (4): 610–614.  
 Rios M, Barros C, 1997. Trypsin-like enzymes during fertilization in the shrimp *Rhynchocinetes typus*. *Mol. Reprod. Dev.* 46: 581–586.  
 Talbot P, Poolsanguan B, Al-Hajj H, Poolsanguan W, 1991. Gamete interaction during in vitro fertilization of lobster *Homarus americanus* oocytes. *J. Struct. Biol.* 106: 125–134.  
 Tsai KL, Talbot P, 1993. Video microscopic analysis of ionophore induced acrosome reaction of lobster *Homarus americanus* sperm. *Mol. Reprod. Dev.* 36: 454–461.  
 Wang YF, Du NS, Lai W, 1998. Cytological study on the mechanism of fertilization in *Macrobrachium rosenbergii* (Crustacea, Decapoda). *Acta Zool. Sinica* 44 (2): 195–202.  
 Wang YL, Zhang ZP, Xie FJ, Li SJ, 2001. Acrosome reaction in sperm from mud crab *Scylla serrata*. *Acta Zool. Sinica* 47 (3): 310–316 (In Chinese).  
 Zhu DF, Wang CL, Yu HW, Zhou S, 2004. Morphological and structural changes of sperm during the acrosome reaction in the swimming crab *Portunus trituberculatus*. *Acta Zool. Sinica* 50 (5): 800–807 (In Chinese).  
 堵南山, 赖伟, 薛鲁征, 1987. 中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 精子顶体反应的研究. *动物学报* 33 (1): 8–13.  
 康现江, 李少菁, 王桂忠, 2000. 锯缘青蟹精子入卵过程的扫描电镜观察. *水产学报* 24 (5): 403–406.  
 康现江, 李少菁, 王桂忠, 项有茂, 2001. 锯缘青蟹精子碱性蛋白

分布与受精. 动物学报 47 (专刊): 82-86.

王艺磊, 张子平, 谢芳靖, 李少菁, 2001. 锯缘青蟹精子顶体反应的研究. 动物学报 47 (3): 310-316.

朱冬发, 王春琳, 余红卫, 周 帅, 2004. 三疣梭子蟹精子顶体反应过程中的形态和结构变化. 动物学报 50 (5): 800-807.

## 图 版 说 明

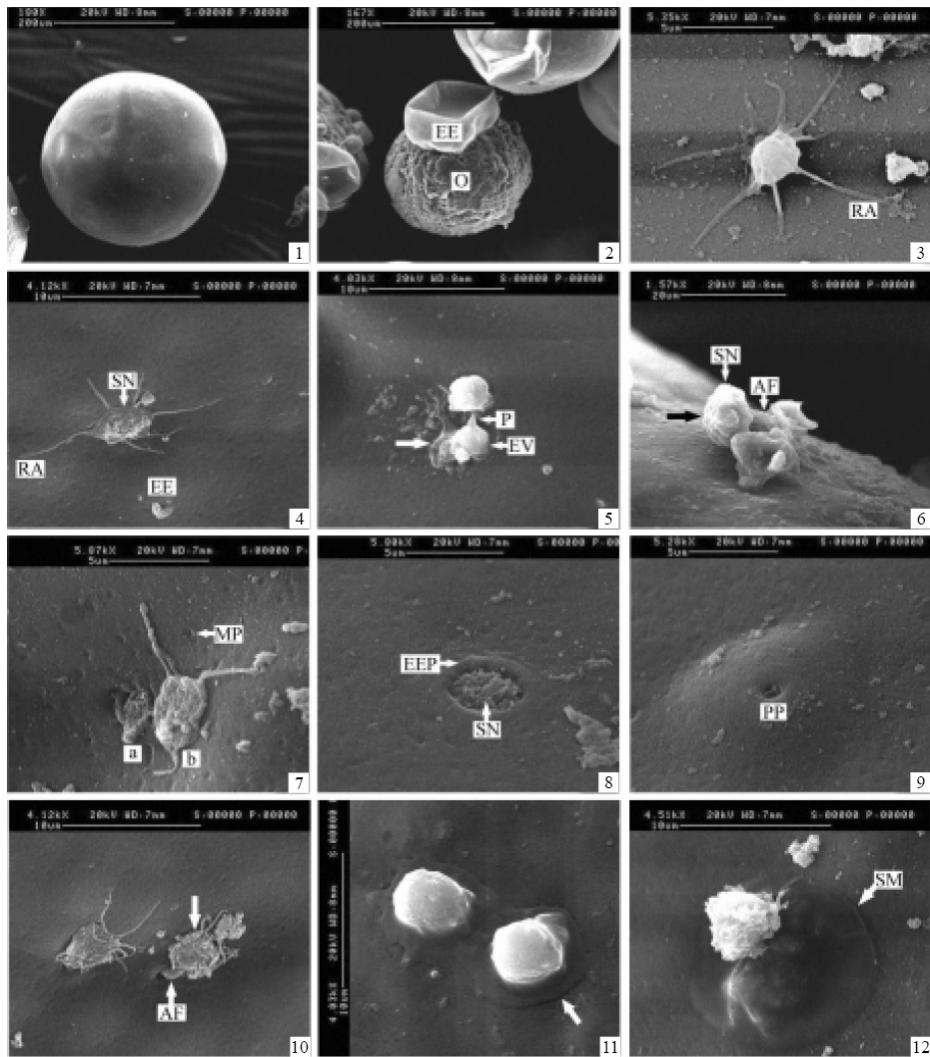
### 图 版 I

1. 未受精成熟卵, 标尺示 200  $\mu\text{m}$ .
  2. 粘带破损卵膜的卵母细胞, 标尺示 200  $\mu\text{m}$ .
  3. 附着于盖玻片上的精子, 标尺示 5  $\mu\text{m}$ .
  4. 精子通过顶体反应入卵膜, 标尺示 10  $\mu\text{m}$ .
  5. 处于顶体反应第三阶段的反向着卵精子 (箭头示), 标尺示 10  $\mu\text{m}$ .
  6. 处于顶体反应第四阶段的侧向着卵精子 (箭头示), 标尺示 20  $\mu\text{m}$ .
  - 7-9. 精子核入卵膜的过程, 标尺示 5  $\mu\text{m}$ .
  10. 斜向入卵膜精子 (箭头示) 的顶体丝受卵母细胞的牵拉而弯曲, 标尺示 10  $\mu\text{m}$ .
  11. 不能入卵膜的顶体反应精子为卵膜所吸纳. 箭头示精子顶体内含物酶解卵膜的痕迹, 标尺示 10  $\mu\text{m}$ .
  12. 精子为卵膜吸纳后在卵表面留下的疤痕, 标尺示 10  $\mu\text{m}$ .
- AF: 顶体丝。EE: 卵膜。EEP: 卵膜突起。EV: 外翻囊。MP: 微孔。O: 卵母细胞。P: 穿孔器。PP: 入卵孔。RA: 核辐射臂。SM: 痕迹。SN: 精子核。

## Explanation of the Plates

### Plate I

1. Unfertilized mature egg. Scale bar indicates 200  $\mu\text{m}$ .
  2. Oocyte with a torn egg envelope. Scale bar indicates 200  $\mu\text{m}$ .
  3. Sperm attached to the surface of cover slip by the radial arms. Scale bar indicates 5  $\mu\text{m}$ .
  4. Sperm has penetrated the egg envelope by the acrosome reaction. Scale bar indicates 10  $\mu\text{m}$ .
  5. Reversely attached sperm (arrow) in the 3rd stage of the acrosome reaction. Scale bar indicates 10  $\mu\text{m}$ .
  6. Laterally attached sperm (arrow) in the 4th stage of the acrosome reaction. Scale bar indicates 20  $\mu\text{m}$ .
  - 7-9. The process of penetration of the egg envelope by sperm nuclei. Scale bar indicates 5  $\mu\text{m}$ .
  10. Sperm (arrow) has penetrated the egg envelope obliquely, and its acrocomal filament has been bent by the traction of oocyte. Scale bar indicates 10  $\mu\text{m}$ .
  11. Reacted sperms that can't penetrate the egg envelope have been incorporated by the egg envelope. Arrow notes the track of lytic action of the acrosomal contents on the egg envelope. Scale bar indicates 10  $\mu\text{m}$ .
  12. A scar-like mark appears on the egg surface after the reacted sperm has been incorporated by the egg envelope. Scale bar indicates 10  $\mu\text{m}$ .
- AF: Acrosomal filament. EE: Egg envelope. EEP: Projection of egg envelope. EV: Everted vesicle. MP: Micropore. O: Oocyte. P: Perforatorium. PP: Penetration pore. RA: Radial arm. SM: Scar-like mark. SN: Sperm nucleus.



图版说明见文后 (Explanation at the end of the text)