

长毛对虾卵子皮层反应的研究*

王艺磊^① 张子平^② 常林^① 李少菁^③

(^① 集美大学水产生物技术研究所, 福建厦门 361021)

(^② 香港城市大学生物与化学系, 香港九龙)

(^③ 厦门大学海洋学系, 福建厦门 361005)

关键词 长毛对虾 卵子 皮层反应 形态学

许多动物卵子的皮层有很多由膜包围的小而圆的细胞器称为皮层颗粒或小泡。受精或人工激动时, 皮层颗粒膜与质膜融合, 导致皮层颗粒发生胞吐作用, 这种现象称为皮层反应。同样地, 在对虾类的卵膜边缘也存在着很多与上述类似的皮层颗粒, 由于其形态呈棒状, 故称为皮质棒。但是, 由于对虾产卵不易控制, 受精瞬间材料极难获得, 且对虾卵子小又富含卵黄不易制片, 因此对虾卵子的皮层反应报道极少。70年代开始 Clark 等(1974, 1977, 1980, 1983)对褐对虾(*Penaeus Aztecus*)和锐脊单肢虾(*Sicyonia ingentis*)卵子的皮层反应进行了较详细的报道。最近蔡难儿等(1997)、张岩等(1998)研究了我国对虾(*P. Chinensis*)卵子激活过程的形态学变化, 关于长毛对虾(*P. penicillatus*)卵子皮层反应的形态、显微和超微结构的变化, 在国内外均未见研究报道。

1 材料和方法

研究用亲虾于1996~1998年分别取自厦门大学海洋系养殖实验场及同安刘五店, 共10批。取部分待产亲虾将其纳精囊内的精英去除, 这样产出的卵子就不受精子的影响, 另一部分亲虾未去除精英。开始产卵时将亲虾移到直径约30cm的脸盆内使其继续产卵, 用滴管分别取其产卵瞬间及不同时间的未受精卵和受精卵, 置于2.5%戊二醛固定液中。一部分材料立即观察并摄影。另取一部分进行常规电镜处理, 用S-520扫描电镜和JEM-100CX II透射电镜观察摄影。其余材料进行常规组织学处理。

2 结果

从雌虾体内排入海水但没有精子激活的卵子, 与有精子激活的卵子相同, 都能完成皮层反应。光镜和电镜观察结果显示, 长毛对虾卵子皮层反应可分为4期: 未反应期, 反应早期, 冠期和消散期。图版I: 1~9从光镜水平显示了长毛对虾卵子皮层反应的全过程。

2.1 未反应期

刚排入海水中的卵子近圆形, 直径约250 μ m(图版I: 1), 扫描电镜下卵子有许多微微的隆起, 此处的卵膜下覆盖着皮质棒(图版I: 10)。透射电镜下可见卵子细胞质内含有大量卵黄颗粒, 且着色深, 在卵黄颗粒周围紧贴卵膜下方呈辐射状排列着一圈皮质棒, 其外有薄膜包绕, 内含物均匀、着色较深(图版I: 11, 12)。这些皮质棒长约20 μ m, 其朝向胞外的一端较粗, 直径约8 μ m, 朝向胞内的一端较细, 直径约6 μ m(图版I: 11)。此外, 在卵子内还分布着大量多峭的线粒体(图版I: 12)。

2.2 反应早期

从此期开始, 卵子遇水略有膨大, 直径约为300 μ m。扫描电镜下卵子表面布满了椭圆形突起(图版I: 13), 但突起高度只大约4.5 μ m, 接着突起处的卵膜破损(图版I: 14), 各突起伸出卵外。随着皮层反应的进行, 突起不断增高(图版I: 2~4)。

2.3 冠期

扫描电镜下卵子表面布满了已完全伸出的皮质棒, 只剩皮质棒的基部与卵子有少许相连。在皮质

1999-07-19 收稿, 1999-11-18 修回。

* 福建省自然科学基金资助项目(C97036)

第一作者简介 王艺磊, 女, 36岁, 理学博士, 副教授。研究方向: 甲壳动物生殖细胞和受精生物学。E-mail: ylwang@jmu.edu.cn

棒基部, 卵子表面留有一个个直径约 $8\mu\text{m}$ 的孔洞, (图版 I : 15, 16) 皮质棒长度较均一, 都在 $30\mu\text{m}$ 左右, 头部直径约 $8\mu\text{m}$, 基部直径约 $4\mu\text{m}$ (图版 I : 17)。从整体看, 整个卵子象长满棘的海胆 (图版 I : 15)。

2.4 消散期

由于电镜标本制备过程中机械性的影响, 卵子外周完全释出的皮质棒和凝胶层基本上无法保留, 只能观察到卵子表面留下的孔洞 (图版 I : 18, 19)。皮质棒已完全释出的卵子呈锯齿状 (图版 I : 20)。光镜下能更清楚地看到消散期 (图版 I : 6, 7, 8, 9), 从卵子内释放出的皮质棒并未马上消失, 而是通过基部的膜相互融连, 包绕在卵子的外周 (图版 I : 21)。皮质棒基部着色浅, 顶端着色深, 与卵膜之间有一间隙。在冠期几乎整个皮质棒都着色很深 (图版 I : 17), 但此时着色深的部分只集中于皮质棒头部。说明皮质棒的内含物正在不断释放。随着皮质棒内含物不断释放, 以及皮质棒膜的融连不断进行 (图版 I : 21), 凝胶层从最大 (图版 I : 7) 逐渐消散 (图版 I : 8, 22)。在消散期卵子内仍可见到大量的线粒体 (图版 I : 23)。

至此, 长毛对虾卵子的皮层反应已基本完成, 虽然皮层反应是一个很短暂的过程, 但皮层反应所形成的覆盖在卵子表面的胶状物将存在很长时间, 一直到第一次卵裂结束后仍存在 (图版 I : 9)。

3 讨论

本研究表明长毛对虾卵子的皮层反应与褐对虾的皮层反应基本相似, 分为未反应期, 反应期, 冠期和消散期。与其它甲壳动物相比有其独特性, 许多形态结构是对虾属以外的甲壳动物所没有的。

长毛对虾的卵子在未反应时, 皮质棒紧贴卵膜

呈辐射状排列, 长约 $20\mu\text{m}$, 直径平均约为 $7\mu\text{m}$ 。在爬行亚目短尾派中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) (堵南山等, 1997) 的卵子中, 皮层颗粒排列不规则, 且小得多, 直径只有 $0.4\mu\text{m}$ 。而在爬行亚目长尾派海螯蛄 (*Homarus gammarus*) (Tablot *et al.*, 1988) 的卵内, 含有 4 种类型的小泡, 高电子密度小泡, 低电子密度小泡, 中等电子密度小泡和环状小泡。

长毛对虾在皮质棒排出的过程中, 皮质棒没有破裂, 而是一直保持着比较固定的形态, 这说明释出的皮质棒仍包有一层膜状结构, 皮质棒内含物的排放是随着皮质棒外膜由基部开始的逐渐融连而逐渐排放的。在中华绒螯蟹的皮层反应中, 皮层颗粒发生胞吐作用而破裂, 其内的椭圆形小体随即释放出来, 这与长毛对虾显然不同。长毛对虾皮质棒的释出几乎是同步的, 而海螯蛄皮层颗粒的释出按顺序进行, 高电子密度和低电子密度的小泡首先排出, 环状小泡和中等电子密度的小泡随后排出。

长毛对虾卵子内部在皮层反应前后总是分布着众多的线粒体, 这与卵子在皮层反应过程及之后的极体排放、原核迁移和成熟分裂等一系列变化相适应。

通过对长毛对虾卵子皮层反应过程的了解, 可以对其功能做初步的探讨。从电镜的结果可以观察到在某些皮质棒上粘着一个或数个精子 (图版 I : 16), 这些附着于皮质棒的精子, 随着皮质棒从卵内的排出而排出, 一定程度上阻止了多精受精。长毛对虾卵子皮层反应所形成的覆盖在卵子表面的胶状物一直到第一次卵裂结束后仍存在 (图版 I : 9), 这就为长毛对虾受精卵内部一系列的生物学变化创造了一个良好的环境, 起到了保护的作用。

参 考 文 献 (References)

- Cai, N. E., F. Lin, B. N. Chen, Y. F. Ke and B. F. Tong 1997 Biology of fertilization in *Penaeus chinensis*. *Oceanologia et Limnologia Sinica* **28**(3): 271~279. [蔡难儿, 林峰, 陈本楠, 柯亚夫, 童保福 1997 中国对虾受精生物学的研究. *海洋与湖沼* **28**(3): 271~279.]
- Clark, W. H. Jr. 1974 *In vitro* fertilization with non-motile spermatozoa of the brown shrimp *Penaeus aztecus*. *Mar. Biol.* **22**: 353~354.
- Clark, W. H. Jr. and J. W. Lynn 1977 A Mg^{2+} dependent cortical reaction in the shore crab, *Penaeid shrimp*. *J. Exp. Zool.* **200**: 177~183.
- Clark, W. H. Jr., J. W. Lynn, A. I. Yudin and H. O. Persyn 1980 Morphology of the cortical reaction in the eggs of *Penaeus aztecus*. *Biol. Bull.* **158**(2): 175~186.
- Clark, W. H. Jr. and F. J. Griffin 1983 Acquisition and manipulation of penaeoidean gametes. In: McVey, J. P. ed. *Handbook of Mariculture*, Vol. 1, Crustacean Aquaculture. Boca Rton: CRC Press, FL. 133~151.
- Du, N. S., W. Lai and H. W. Jiang 1997 Preliminary study of the cortical reaction of the egg in the crab, *Briocheir sinensis*. *Acta Zoologica Sinica* **43**(4): 337~343. [堵南山, 赖伟, 姜焕伟 1997 中华绒螯蟹卵子皮层反应的初步研究. *动物学报* **43**(4): 337~343.]
- Tablot, P. and M. Goudreau 1988 A complex cortical reaction leads to formation of the fertilization envelope in the lobster, *Homarus*. *Gamete Res.* 1~18.
- Zhang, Y., Q. Y. Wang, J. Li, X. T. Sun and L. J. Zhang 1998 Morphological studies of the cortical reaction in the egg of *Penaeus chinensis*. *Journal*

of Fisheries of China 22(3) 204~210. [张岩, 王清印, 李健, 孙修涛, 张立敬. 1998. 中国对虾卵子激活过程的形态学研究. 水产学报 22(3) 204~210.]

外文摘要(Abstract)

MORPHOLOGY OF THE CORTICAL REACTION IN THE EGGS OF *PENAEUS PENICILLATUS*

WANG Yi-Lei^① ZHANG Zi-Ping^② CHANG Lin^① LI Shao-Jing^③

(^① Institute of Aquaculture Biotechnology, Jimei University, Xiamen 361021, Fujian, China)

(^② Department of Biology and Chemistry, City University of Hong Kong, Kowloon, Hong Kong)

(^③ Oceanography Department, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China)

Morphology of the cortical reaction in the eggs of *Penaeus penicillatus* was studied with the light microscopy, scanning electron microscopy and transmission electron microscopy. The cortical reaction is divided into four stages. These stages are unreacted stages, early stages, corona stages and dissipation stage. The cortical rods were released and formed a jelly coating around the surface of the egg. The jelly coating remained until the first cleavage had finished. In the end, the hatching membrane appeared around the egg. It is believed that these cortical reaction are responsible for the prevention of polyspermy by both a chemical and physical block and that also may establish a microenvironment inside a tough chorionic membrane for the developing embryo.

Key words *Penaeus penicillatus*, Egg, Cortical reaction, Morphology

图版说明

图版 I (Plate I)

1. 光镜下成熟的、未反应的卵子 (A mature, unreacted egg in light microscopy) × 32
- 2~4. 光镜下皮层反应早期 (Early stages of cortical reaction in light microscopy) × 32
5. 光镜下皮层反应冠期 (Corona stages of cortical reaction in light microscopy) × 32
- 6~7. 光镜下皮层反应消散期 (Dissipation stages of cortical reaction in light microscopy) × 32
- 8~9. 光镜下可见皮层反应所形成的覆盖在卵子表面的胶状物一直到第一次卵裂结束后仍存在 (A jelly coating around the surface of the egg remained until the first cleavage had finished in light microscopy) × 32
10. 扫描电镜下卵子皮层反应未反应期 (A unreacted egg in scanning electron microscopy) × 690
11. 透射电镜下皮层反应未反应期 (A unreacted egg in transmission electron microscopy) × 2 000
12. 透射电镜下皮层反应未反应期, 示线粒体众多 (A unreacted egg in transmission electron microscopy, showing a lot of mitochondria) × 4 000
- 13~14. 扫描电镜下卵子皮层反应早期 (Early stages of cortical reaction in scanning electron microscopy) × 660
15. 扫描电镜下卵子皮层反应冠期 (Corona stages of cortical reaction in scanning electron microscopy) × 150
16. 扫描电镜下卵子皮层反应冠期放大 (A magnification of corona stages of cortical reaction in scanning electron microscopy) × 1 200
17. 光镜下卵子皮层反应冠期, H. E. 染色 (Corona stages of cortical reaction in light microscopy, H. E. staining) × 250
18. 扫描电镜下皮层反应消散期 (Dissipation stages of cortical reaction in scanning electron microscopy) × 350
19. 扫描电镜下皮层反应消散期放大 (A magnification dissipation stages of cortical reaction in scanning electron microscopy) × 2 000
20. 透射电镜下皮层反应消散期 (Dissipation stages of cortical reaction in transmission electron microscopy) × 500
21. 光镜下皮层反应消散期, 示皮质棒相互融连, H. E. 染色 (Dissipation stages of cortical reaction in light microscopy, showing cortical rods fuse together) × 200
22. 孵化膜形成, H. E. 染色 (The formation of hatching membrane, H. E. staining) × 200
23. 透射电镜下皮层反应消散期, 示线粒体仍然众多 (Dissipation stages of cortical reaction transmission electron microscopy, showing a lot of mitochondria still) × 1 500

CR 皮质棒 (Cortical Rod) FM 受精膜 (Fertilization Membrane) M 线粒体 (Mitochondria) S 精子 (Sperm) V 卵黄颗粒 (Vitelline granule)

