

# 十足目受精生物学研究概述<sup>\*</sup>

王艺磊<sup>1,2)</sup> 李少菁<sup>2)</sup>

(集美大学水产学院水产养殖系<sup>1)</sup> 厦门 361021) (厦门大学海洋学系<sup>2)</sup> 厦门 361005)

张子平

(香港城市大学生物与化学系 九龙 香港)

关键词 十足目 受精生物学 顶体反应 皮层反应

由于十足目精子的特殊结构——无鞭毛、不运动、核呈凝絮状、顶体结构复杂,且受精过程迅速,特别是精卵识别、顶体反应,常常在瞬间发生,加上卵子富含卵黄而不易制片,使其受精生物学研究与其它精子具鞭毛的动物相比报道较少。本文就十足目受精生物学的研究做一简要的回顾与展望。

十足目动物的受精过程与其它动物相同,是由一些按特定顺序出现的步骤所组成。精卵相互识别、附着,附着后的精子发生顶体反应,完成顶体反应的精子穿过卵膜,精卵膜相融合以及卵子产生皮层反应,受精膜形成等一系列过程可称为受精的前事件。受精后事件是指精子核进入卵细胞质形成原核,雌雄原核相互结合的过程。

## 1 受精过程的前事件

### 1.1 精子的变化

#### 1.1.1 精子的附着

对于能运动的精子,卵子能分泌物质以招诱精子,精子快速游向卵子进而完成识别、结合等过程。而对十足目这类不游动的精子,精子着卵的方式相当独特。

爬行亚目的精子具有众多的辐射臂,在精卵接触时首先发挥作用。中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*),唐氏招潮蟹(*Uca tangeri*)精卵的接触就是主要藉精子本身所具有的辐射臂<sup>[1-3]</sup>,辐射臂逐渐收缩将精子牵向卵子,使头帽定位于卵膜上。辐射臂增加了这类不游

动、无鞭毛精子接触卵子的机会,其收缩有助于精卵靠拢和头帽在卵膜上的定位。辐射臂除了这一作用外,似乎没有其它功能,因为当精子完成顶体反应后,它们常收回核内,不易辨别<sup>[3]</sup>。

游泳亚目真虾部精子是一“外翻的伞形”细胞。如长臂虾科的罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)<sup>[4]</sup>首先是精子的伞部(即杯状核)边缘与卵膜接触,15~30秒后,精子棘突从基部开始弯曲,直至棘突的顶端与卵膜相接触,随后杯状核底部与卵膜充分接触,45秒后与棘突顶端相接触的外层卵膜破裂,精子底部开始与卵膜分开,60秒后,棘突从卵膜的裂口进入,而精子底部已完全和卵膜分开并被举起。有趣的是精子杯状部分最先接触的卵膜不留任何接触的痕迹。这是一种独特的“附着——再定位”的精卵识别过程。动额虾科的正型动额虾(*Rhynchocinetes typus*)则以精子棘突的顶端和卵子接触,并可能分泌“类附着蛋白”以识别和溶解卵膜<sup>[5]</sup>,没有上述复杂的过程。对虾部精子呈梨形<sup>[6]</sup>,Clark及其同事通过对虾科单肢虾属的锐脊单肢虾(*Sicyonia ingentis*)一系列的研究后,认为精子是通过棘突的顶端与卵子结合,完成精子的最初附着,精子的糖类和卵膜的蛋白质在这一结合中起着重要的作用。当棘突完成回缩和胞吐后,精子穿透卵膜以糖蛋白复

<sup>\*</sup> 本文得到福建省自然科学基金的资助 资助号 C97036  
第一作者介绍:王艺磊,女,34岁,副教授,硕士;

收稿日期:1997-04-21,1997-09-22

合物与卵膜紧密结合,完成次级附着。Lynn 和 Clark<sup>[7]</sup>认为白对虾 (*Penaeus setiferus*) 和褐对虾 (*P. aztecus*) 的精子以同样的方式附着于卵膜上。蔡健儿<sup>[8]</sup>则认为中国对虾 (*P. chinensis*) 棘突仅起与卵子沾附接触的作用,不参与穿卵功能。

### 1.1.2 顶体反应

(1) 顶体反应的形态变化:一个多世纪以前, Hallez (1874) 最先报道爬行亚目的精子会发生明显的结构变化,且可通过机械和化学的方法加以诱导。Fasten (1921) 观察到这一变化发生在受精过程中。这种变化被描述为精子的“爆炸”,精子的“外翻”和精子的“脱鞘”。Barker 和 Anstin (1963) 首先确认了这种精子外翻即是顶体反应,为正确认识这类精子的结构与功能奠定了基础。Brown (1966) 第一次在超微结构水平观察了美味优游蟹 (*Callinectes sapidus*) 的顶体反应。之后,许多学者在其它爬行亚目中也进行了类似的研究。游泳亚目顶体反应的研究开始得比爬行亚目晚,且主要集中在锐脊单肢虾。

爬行亚目短尾派的精子在顶体反应前,精子已发生一定的变化。如中华绒螯蟹<sup>[1,2]</sup>、唐氏招潮蟹<sup>[9]</sup>先是头帽鼓起,顶体变长最后头帽破裂穿孔,形成头帽孔。这种顶体前端的最初膨大及随后通过头帽的内含物释放是一种水化作用的结果。头帽坚硬,裂开后仍绕着顶体囊有利于物质的外排。在一些种类另一明显变化是细胞质带周围膜状层的聚集。有些种类这一结构在未诱发顶体反应的精子中就已存在,如美味优游蟹和星新关公蟹 (*Neodoriippe astuta*),而有些种类如唐氏招潮蟹和普通滨蟹 (*Carcinus maenas*) 的成熟精子只有一些不规则的膜堆积在顶体腔周围,顶体反应初期才出现有序膜片层。这种类髓磷脂膜的起源未明,但从有些种类是从无到有,在顶体反应时快速形成,推测其可能起源于细胞质区的残余膜<sup>[9]</sup>。

短尾派精子顶体反应大致分两个时相。

第一时相:顶体囊外翻,顶体内含物释放。

唐氏招潮蟹头帽打开后,顶体囊内含物外排。随后囊内的结构排序消失,含有类髓磷脂膜的细胞质聚集在顶体管基部,形成近端段 (Proximal piece)。中华绒螯蟹随着核杯的收缩压迫顶体囊,内含物穿过头帽外翻,丝状层、中间层和片层结构的中间部分先后外翻,并形成翻出囊。翻出囊压入卵黄膜,头帽在核杯与翻出囊之间形成厚环状的领 (Collar),使整个精子形似葫芦。随后完整包裹着翻出囊的顶体膜和质膜破裂,丝状层穿出裂孔,形成孔洞,顶体囊内的卵膜溶素等内含物从孔洞释出以溶解卵黄膜。

第二时相:顶体管前伸或顶体丝的形成。

当中华绒螯蟹精子接触翻出囊前端的卵膜溶解后,卵质膜凹陷,顶体管的中央管向前突出,穿过头帽孔,引起片层结构、头帽翻转,囊内物质全部驱出。中央管突出时,顶体管的外周延伸部分也被牵引前伸形成细管,穿过头帽孔,留在头帽孔后的膨大游离端在顶体管前伸的同时,牵引核杯使之收缩,核明显变小呈圆盘状,中央凹陷,但仍留在卵外,紧贴卵膜。

在完成这两个主要的顶体反应时相后,中华绒螯蟹片层结构、加厚环等脱落,精子呈钉状达到形态上最精简的程度。钉帽是核,钉杆为顶体管,二者之间有一圈头帽,整个精子进入卵内,顶体管继续伸长,与卵质膜接触,最后精卵质膜融合,顶体管带动核物质进入卵内,完成了受精的前事件。唐氏招潮蟹顶体管向前突出,顶体管和延伸的近端段组成了顶体丝。基部丰富的膜聚集成纵形结构使近端段延伸,顶体丝延长。其近端段与中华绒螯蟹顶体管的外周部分具有同样的功能,使顶体管延长成为精子的最前端。

大多数长尾派和异尾派精子的顶体反应与短尾派相似。如美洲海 蛄 (*Homarus americanus*)<sup>[10]</sup>最初是头帽凹陷处的膜囊泡化,引起顶体前端质膜和顶体膜破裂,头帽膨大破裂移向两侧形成头帽孔。顶体反应也分为两个时相,首先是顶体囊外翻,其内含物发生水化作用并向固定的头帽移动,当顶体基部移至头帽的

位置时第一时相完成。第二时相是头帽被压缩,亚顶体物、厚环状的领,大部分的核及辐射臂“射”入翻出囊,亚顶体物质在精子的前端形成一突起的丝状物,顶体反应后变为非常致密的顶体丝,体积只有原来的1/5。

顶体反应的作用既促进了顶体囊内含物的外排,以溶解卵膜,也促使顶体丝向前运动以使精子附着于卵子。对于十足目这类不动的精子,顶体反应的另一个重要功能是使这些不动精子向前移动以穿透卵膜。在十足目的许多种类,卵外被有一层卵壳(Chorion),且结构复杂,如美洲海 蛄卵壳有 $4\mu\text{m}$ ,顶体反应使精子移动 $18\mu\text{m}$ ,这一过多的移动是一种有效的安全措施。它既确保了精子核通过卵壳、卵周隙,也保证了配子间的接触。Brown(1966)也认为普通滨蟹精子穿透卵壳时可在卵表面产生一较大的压力。

不象有鞭毛的精子,十足目成熟精子的核呈凝聚状,这种去浓缩是顶体反应所必需的。顶体反应前,核易弯曲、有弹性、易水化保证了顶体反应的第二时相易于完成。

游泳亚目的顶体反应与爬行亚目有相似之处,但也有许多不同。

罗氏沼虾和正型动额虾没有观察到顶体反应,精子以棘突竖起直接插入卵膜<sup>[4,5,11]</sup>。而锐脊单肢虾则相当不同,有双相的顶体反应。当其棘突的顶端与卵膜相接触时(即完成最初附着后),精子迅速进入顶体反应的第一时相,棘突快速收缩,棘突的丝状结构解聚呈颗粒状。同时膜囊膨大,五层膜(顶体外膜:Pentalaminar Membrane PM)裂开并向后折,暴露出顶体囊。前颗粒位于精子的最前端,当精子完成这一时相之后,精子穿透卵膜,并以糖蛋白类似物与其紧密相联,推测这种糖蛋白可能是由膜囊释放出来的。

初级附着,棘突回缩、胞吐,穿透卵膜以及次级附着这一系列事件在锐脊单肢虾进行得非常迅速(<3秒)。但一旦次级附着完成后,在20~40分钟内(视温度而定),精子的形态不发生明显变化。在这段休眠期内,卵子发生两个

明显的变化——成熟分裂及凝胶的排放,精子逐渐被形成的胶质层包被,精子释放顶体丝完成顶体反应的第二时相。顶体丝一般长 $10\mu\text{m}$ 左右,直径约 $0.5\mu\text{m}$ ,是从亚顶体区的晶格体(Crystalline lattice)和延伸盘(Extended saucer)中间延伸而成。延伸盘成为顶体丝的前端。瓣状体(Petal)在精子胞吐后也从 $0.5\mu\text{m}$ 延长到 $2\sim3\mu\text{m}$ ,一旦顶体丝延长到 $10\mu\text{m}$ ,瓣状体向侧面延伸。后者延伸方向的改变以及是否对顶体丝的延伸起作用等机制目前仍未明了。整个顶体丝由管状结构(tubular-like structure: TLS)、延伸盘和瓣状体所构成。锐脊单肢虾棘突的收缩推测是微丝解聚的结果,其根据是许多对虾部的精子棘突中均有肌动蛋白的存在。但顶体丝不存在肌动蛋白,因顶体丝既不被肌动蛋白的抗体所标记,也没有被NBD-Phalloidin所标记。虽然在结构上,管状结构被认为是含有微丝的细管,但还未能用免疫定位技术或精子蛋白免疫印迹技术等生化手段加以证实。顶体丝聚合的生化过程是相当有趣而至今未能加以解释的问题。

锐脊单肢虾的双相顶体反应是非常独特的,是相互独立,暂时分开的过程,顶体丝的延伸在3~5分钟内完成。与爬行亚目显然不同,后者两个时相间隔相当短,顶体丝的伸长在瞬间完成。可以看出这两类不动精子在顶体反应的机制上存在较大的差异。尽管锐脊单肢虾不能代表所有游泳亚目的特征。

主要经济种类对虾属的精子顶体反应未见正式报道,但在有关综述<sup>[12]</sup>中提及了中国对虾的顶体反应,并大致将其分为五个阶段 a. 后主体部细胞质带的胞吐, b. 棘突发生收缩, c. 顶体外膜与其质膜的融合及穿孔,顶体内含物从孔口释放出来, d. H形环状体前伸, e. 胞核内含物向卵方推进。蔡难儿<sup>[8]</sup>推测中国对虾的顶体丝可能由顶体锥内部物质或者帽芯颗粒释放形成的,并认为在受精时精子不发生胞吐现象。

## (2) 诱发顶体反应的条件:

### A. 卵子释放的凝胶 凝胶是精子顶体反

应自然的诱发者, 锐脊单肢虾的精子完成顶体反应的第一时相后, 卵子开始排放凝胶, 在凝胶的作用下, 顶体丝才能形成。通过精子在海水(无卵)中可自发产生顶体胞吐而不能完成顶体反应全过程也说明了这一点。

**B. 卵水** 卵子入水后, 即使没有遇到精子, 仍会发生皮层反应, 释放凝胶, 因此人工自制的卵水已普遍被用于诱发十足目的顶体反应, 如: 中华绒螯蟹<sup>[1]</sup>、中国对虾<sup>[8]</sup>, 锐脊单肢虾<sup>[13]</sup>等。锐脊单肢虾的卵水中存在类胰蛋白酶, 当卵水中蛋白质/碳水化合物的比例为 4:1, 并含有类胰蛋白酶时可诱发顶体丝的形成, 并可被大豆胰蛋白酶的抑制剂所抑制。采用荧光电镜技术的研究表明, 这一蛋白酶的结合位点存在于精子胞吐之后成为精子最前端的前颗粒上, 后者由许多种糖蛋白组成。精子暴露在卵水中至少 20 分钟, 通过水解消化露出精子的结合位点, 从而诱发顶体丝的形成<sup>[13]</sup>。用糜蛋白酶、胰蛋白酶, 血管舒缓素等多种水解酶替代卵类胰蛋白酶同样诱发顶体丝的形成。而顶体蛋白酶本身却不能。说明了卵类胰蛋白酶对顶体丝的产生是必需的。另外, 用离子载体的研究发现在顶体丝形成时有  $K^+$  的外流, 因此卵蛋白酶可能还改变  $K^+$  通道或  $Na^+/K^+$  ATP 酶的活性。实验也同时指出卵水不影响顶体的胞吐, 因此锐脊单肢虾顶体反应的两个时相是由不同的诱发剂所激发。

**C. 离子在调节顶体反应中的作用**  $Ca^{2+}$ : 迄今在所研究过的动物中都证实了顶体反应取决于  $Ca^{2+}$  的存在。0.1%  $CaCl_2$  可诱发中华绒螯蟹的顶体反应, 但诱导率比实验用的卵水和海水低, 卵子中  $Ca^{2+}$  含量相当于 0.027%  $CaCl_2$  水溶液, 海水中  $Ca^{2+}$  相当于 0.02%  $CaCl_2$  水浓度, 都远低于 0.1%  $CaCl_2$ 。因此  $Ca^{2+}$  要有效促使反应, 还需有其它因素配合并采用适当的浓度<sup>[1]</sup>。用 0.02%  $CaCl_2$  也可诱发中国对虾的顶体反应<sup>[12]</sup>。锐脊单肢虾精子细胞外  $Ca^{2+}$  对诱发顶体的胞吐是必需的, 未获能的精子  $Ca^{2+}$  浓度极低, 获能的精子含有  $1 \sim 2 \mu\text{mol/L}$  的  $Ca^{2+}$ , 这一浓度在顶体反应过程中保持不变<sup>[14]</sup>。动

物精子顶体反应时一般是细胞外  $Ca^{2+}$  内流引起, 顶体反应过程中细胞内  $Ca^{2+}$  快速增加, 而锐脊单肢虾在整个顶体反应期间  $Ca^{2+}$  不流动<sup>[14]</sup>。其他十足目精子是否也存在这一现象未见报道。

**pH:** pH 对顶体反应也是相当重要的。在 pH9 的人造海水中可诱发中国对虾顶体反应<sup>[12]</sup>。锐脊单肢虾顶体丝形成与细胞内 pH 值(pHi)的降低有关, pHi 的降低总是伴随着  $K^+$  的外流。精子在海水(pH8)可自发发生胞吐, 如果细胞外 pH(pHo)降低至 6.5 或更低将在 10 分钟内产生顶体丝。而正常情况下则要 30~40 分钟。可能  $K^+$  外流及 pHo 降低使细胞外  $H^+$  内流, 引起 pHi 降低。但细胞内的酸化不是最终引起顶体丝形成的激发剂<sup>[14]</sup>, 因 pH 单独降低不能激发顶体丝的形成。

$K^+$  和  $Na^+$ : 单价阳离子  $K^+$  和  $Na^+$  对无脊椎动物的顶体反应十分重要, 但十足目的报道极少。 $Na^+$  几乎不能引起中华绒螯蟹的顶体反应<sup>[1]</sup>。 $K^+$  可能参与了锐脊单肢虾顶体丝的形成,  $K^+$  外流引起膜通性改变, 并与细胞外  $H^+$  交换, 使  $H^+$  内流<sup>[14]</sup>。

离子载体 A23187: A23187 已成功地诱发许多动物的顶体反应, 它可特异地转运两价离子如  $Ca^{2+}$  和  $Mg^{2+}$ 。但在海水中只有 A23187 时仍能诱发锐脊单肢虾的顶体反应, 且浓度以  $48 \mu\text{g/ml}$  诱导率最高。

### 1.1.3 精子穿透卵膜

顶体反应主要结果是释放顶体内含物, 顶体反应后, 精子已穿透卵膜。Hinsch (1971) 和 Brown (1966) 推测卵膜的穿透至少部分是由于精子水解酶的释放。现研究表明, 精子的穿透是由于精子蛋白酶的活动所引起的。Chen 等 (1994) 认为锐脊单肢虾精子具有两类蛋白水解酶: 类胰蛋白酶和类氨基肽酶。类胰蛋白酶是卵膜的溶素, 使这类不动精子克服了卵膜这一不可穿透的障碍, 类氨基肽酶可能参与了呼吸和运动。罗氏沼虾的卵由双层膜所包被, 外层是  $0.5 \mu\text{m}$  的蛋白成分, 内层是  $2.5 \mu\text{m}$  厚的粘多糖。Lynn 和 Clark<sup>[4]</sup> 认为其卵膜的穿透同样

需要水解酶的参与。中华绒螯蟹一旦卵膜溶素释放,卵膜即被溶解,翻出囊挤入卵内<sup>[3]</sup>。

## 1.2 卵子的变化

十足目动物的精子没有受精孔,精子可从卵子的任何部位进入,但一般是单精受精。当精子与卵子接触后,部分种类的卵子除形成受精锥外,还发生一系列深刻的变化。

### 1.2.1 皮层反应

精子一旦与卵子接触,最主要的变化是皮层反应。十足目的产卵不易控制,难以观察卵子的反应,因此研究十足目卵子在受精过程中的变化资料极少。但大多数已研究过的十足目动物的卵子均有皮层反应。Hudinaga(1942)最先简要描述了日本对虾(*P. japonicus*)和单刺对虾(*P. monoceros*)卵的皮层反应,两种对虾的卵子表面覆盖有一层凝胶,且一直到第二次卵裂时仍存在。白对虾和褐对虾卵子的皮层反应也有过研究报道,特别是褐对虾,Clark, Lynn和Yudin(1980)详尽地概述了卵子接触海水时的皮层反应,并将其分为未反应期,反应早期,冠期和消散期四期。未反应阶段大量的皮质棒位于整个卵质周边的小囊内,外被一薄膜与外界隔开,棒长 $39.9\mu\text{m}$ ,顶径 $9.3\mu\text{m}$ ,底径 $4.6\mu\text{m}$ ,皮质棒由大量紧密包绕的纤维状结构所组成。当与海水相接触时,皮质棒微微从小囊释出,结构没有明显改变,为反应早期;冠期阶段,皮质棒完全从小囊内排出,覆盖在其上的薄膜变为碎片。进入消散期时,皮质棒发生显著的变化,消散并形成一围绕卵子的胶质层,使卵膜举起。整个反应与细胞外的 $\text{Mg}^{2+}$ 有关。皮层反应后,卵体积缩小。笔者在光镜和扫描电镜下也观察了长毛对虾卵子的皮层反应,首先卵表面凸起,皮质棒释出,均匀分布于整个卵表面。皮质棒完全释出后,卵表面出现凹陷,之后,皮质棒在底部首先融连,最后形成胶质层。蔡难儿等<sup>[8]</sup>认为中国对虾卵子皮层反应与受精并无必然的联系,我们的结论与之相符。

锐脊单肢虾皮层反应包括两种皮层小囊的连续的胞吐作用<sup>[15]</sup>,这两种小囊均在排卵期的卵中出现,电子致密的小囊从高尔基体中分化

出来,环状小囊来源于原始的内质网池内的环状结构。皮层反应前,凝胶前体贮藏在小囊内,反应开始才从小囊中释放出来,并包绕在卵子周围,最后转变为均质的胶质层。

爬行亚目卵子的皮层反应报道极少。Talbot等(1988)认为钩海蛞(*Homarus gammarus*)卵子内含有四种类型的小泡,皮层反应时它们先后排出,高电子密度和低电子密度的小泡首先排出,但作用未明,环状和中等电子密度的小泡随后排放形成了一层新的内膜,并与原先的卵膜相融合形成了受精膜。中华绒螯蟹<sup>[2]</sup>皮层变化与游泳亚目相似,靠近质膜的卵质表面中攒聚众多排列不规则的皮层颗粒。颗粒近圆形,直径 $0.4\mu\text{m}$ ,外皮薄膜,内呈蜂窝形,含有许多紧密相依的椭圆形小体。受精后皮层颗粒的外膜与卵子质膜相融合,皮层颗粒发生胞吐而破裂,椭圆形小体释出,散布于卵周隙,释出的小体除部分分解吸收外,大部分通过自身的酶解作用去致密并与卵周隙中存在的粘多糖发生水合作用,随即和卵膜内层结合。使得内层增厚,致密度提高。有利于阻遏其它后进精子再与卵子质膜接触。

皮层反应的功能之一可能是通过化学和生理的阻抑来防止多精受精。皮层反应后多余的精子常从卵的表面移开。另一个可能的功能是形成一保护性的胶质层,以抵抗不稳定的环境,有利于卵子的发育。

### 1.2.2 孵化膜形成

皮层反应之后,孵化膜形成。其过程在十足目动物基本类似。膜的形成与皮层小囊的胞吐作用有关,并依赖于 $\text{Mg}^{2+}$ 的存在<sup>[7]</sup>。孵化膜可自行形成,不需要受精<sup>[19]</sup>。中华绒螯蟹受精膜出现于卵膜内层之下,形成十分迅速,是在一个先行精子的顶体管接触卵质膜的瞬间产生。受精膜的成分可能部分是由皮层颗粒所分泌的。其机能起到真正阻遏其他后进精子与卵子质膜接触。

### 1.2.3 极体排放

Hudinaga(1942)认为日本对虾的第一极体在受精锥达到最大时开始出现,受精锥消失时

第一极体已排放至卵表面,第二极体于孵化膜开始上升后出现,当孵化膜达到最大高度时第二极体排出,与受精膜结合。锐脊单肢虾在胶质层形成后进行第一次成熟分裂,35~40分钟释放第一极体,并于孵化膜形成后完成第二次成熟分裂,45~50分钟排出第二极体<sup>[7]</sup>。中国对虾于受精后10分钟和30分钟分别排出第一和第二极体,此时卵子的变化与锐脊单肢虾相似<sup>[8]</sup>。

中华绒螯蟹排出卵已处于成熟分裂的中期,第一极体和第二极体分别在受精后的40分钟和3小时后完成<sup>[2]</sup>。

## 2 受精过程的后事件

精卵质膜融合后,精核进入卵内变为雄原核,雄原核出现的时间在十足目相差甚远。如罗氏沼虾在受精后2分钟雄原核形成<sup>[4]</sup>。而中华绒螯蟹雌体排出的卵在18℃下一直要到13小时以后,精核经重组,变为雄原核。尽管中华绒螯蟹是多精着卵,数精入卵,但却是单精受精,在受精卵内只有一个雄原核。

雄原核形成后,开始向卵中央移动。微管可能参与了锐脊单肢虾<sup>[17]</sup>以及中华绒螯蟹的原核迁移<sup>[18]</sup>。中华绒螯蟹雄原核在迁移过程中不断膨大,最后大小变得与雌原核近似。发育到14小时左右雄原核已靠近雌原核,但二者并不融合,而是以联合的方式形成联合核。这种联合核在许多鱼类也有出现,其他十足目雌雄原核的结合情况未见报道。中华绒螯蟹卵发育到22小时左右,通过核质交换和整合,联合核变为一个无核膜的椭圆形细胞核,进入第一次卵裂,至此受精过程完成。

有丝分裂器——星体由中心粒产生,在受精的后期出现。中华绒螯蟹的精星体在受精后6小时出现,过30分钟后分裂为二,但没有卵星体的出现。说明了以后核分裂的有丝分裂器是父性遗传的<sup>[18]</sup>。这种中心粒由父方遗传的特性也是十足目共有的特征<sup>[17]</sup>。锐脊单肢虾精星体在雄原核迁移过程中发生一次独特的形态变化,从高度极化的排列到更为典型的辐射

类型,精星体最初方向指向皮层,推测可能形成与皮层相对抗的力量以推动雄原核向内迁移。锐脊单肢虾原核的迁移特殊,除了精星体外,还有卵星体形成。在减数分裂之后,留下的母本中心粒还活跃几分钟并产生自己的星体,卵星体异常大且在雌性原核的迁移过程中一直存在。雌原核的迁移是双相的,第一时相似乎不依赖于精星体,最初的迁移是移向卵的中心,而不是雄原核。雌原核与精星体相接触组成了雌原核迁移的第二时相。

## 3 结 语

十足目受精生物学的研究虽已取得了可喜的进展,但应该看到:

(1)游泳亚目的研究多集中在锐脊单肢虾,它隶属对虾科短额虾亚科,在分类上属于数量很少的一支,不能做为游泳亚目的模式。

(2)对一些具有经济意义的十足目的受精生物学还应开展更为深入的研究。

(3)无脊椎动物的一些种类如海胆已从分子水平研究其受精机制,这是十足目受精生物学今后应研究的方向。

(4)受精生物学研究对于通过染色体操作和转基因技术构建新品种都是必不可少的,应当加以重视和资助。

## 参 考 文 献

- 1 堵南山,赖伟,薛鲁征.中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)精子顶体反应的研究.动物学报,1987,33(1):8~13.
- 2 堵南山,赖伟,安婴,姜焕伟.中华绒螯蟹受精的细胞学研究.中国科学B辑,1992,3:260~265.
- 3 Medina, A. Structural modifications of sperm from the fiddler crab *Uca tangeri* (Decapoda) during early stages of fertilization. *J. Crustacean Biol.*, 1992, 12(4): 610~614.
- 4 Lynn, J. W., W. H. Clark, Jr. A morphological examination of sperm-egg interaction in the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Biol. Bull.*, 1983, 164: 446~458.
- 5 Barras, C., E. Dupre, L. Viveros. Sperm-egg interaction in the shrimp *Rhyncocinetes typus*. *Gamete Res.*, 1986, 14: 171~180.
- 6 张子平,王艺磊.对虾精子的研究I.成熟精子的形态与超微结构.厦门水产学院学报,1991,13(2):1~8.

- 7 Clark, W. H. Jr., F. J. Griffin. Acquisition and manipulation of penaeoidean gametes. in Handbook of Mariculture, Vol. 1, *Crustacean Aquaculture*, McVey, J. P., Ed., CRC Press, Boca Rton, FL, 1983, 133~151.
- 8 蔡难儿, 林峰, 陈本楠, 柯亚夫, 童保福. 中国对虾受精生物学的研究. 海洋与湖沼, 1997, 28(3): 271~279.
- 9 Medina, A., A. Rodriguea. Structural changes in sperm from the fiddler crab, *Uca tangeri* (Crustacea, Brachyura), during the acrosome reaction. *Mol. Reprod. Dev.*, 1992, 33: 195~201.
- 10 Talbot, P., P. Chanmanon. Morphological features of the acrosome reaction of lobster (*Homarus*) sperm and the role of the reaction in generating forward sperm movement. *J. Ultrastruct Res.*, 1980, 70: 287~297.
- 11 Perez, C., A. Roco., A. Castro. et al. Localization of microfilaments and a tubulin-like protein in crustacean (*Rhynchocinetes typus*) spermatozoon. *Mol. Reprod. Dev.*, 1991, 28: 373~379.
- 12 刘瑞玉, 曾呈奎, 周海欧, 李本川主编. 中国海洋科学研究与开发, 青岛出版社, 1992. 27~28.
- 13 Griffin, F. J., W. H. Clark Jr. Induction of acrosome filament formation in the sperm of *Sicyonia ingentis*. *J. Exp. Zool.*, 1990, 254: 296~304.
- 14 Lindsay, L. L., W. H. Clark Jr. Proloading of micromolar intracellular  $Ca^{2+}$  during capacitation of *Sicyonia ingentis* sperm, and the role of the pH decrease during the acrosome reaction. *J. Exp. Zool.*, 1992, 262: 219~229.
- 15 Pillar, M. C., W. H. Clark Jr. Hatching envelope formation in shrimp *Sicyonia ingentis*, ova: Origin and sequential exocytosis of cortical vesicles. *Tissue Cells*, 1988, 20: 941~952.
- 16 Pillar, M. C., W. H. Clark Jr. Oocyte activation in the marine shrimp *Sicyonia ingentis*. *J. Exp. Zool.*, 1987, 224: 325~329.
- 17 Hertzler, P. L., W. H. Clark Jr. The late events of fertilization in the penaeoidean shrimp *Sicyonia ingentis*. *Zygote*, 1993, 1: 287~296.
- 18 Lee T-H, F. Yamazaki. Cytological observations on fertilization in the chinese fresh-water crab, *Eriocheir sinensis*. by artificial insemination (*in vitro*) and incubation. *Aquaculture*, 1989, 76: 347~360.

## 哺乳动物性别决定的分子要素<sup>\*</sup>

邓 恹 王金星

(山东大学生命科学学院 济南 250001)

关键词 性别决定 wt1 SOX9 SRY mis SF-1

哺乳动物性别分化是由胚胎时期性腺分泌的激素控制,而在激素分泌前,XX和XY胎儿都具有牟勒氏管(Müllerian duct),吴夫氏管(Wolffian duct)两套生殖导管和未分化的性腺。牟勒氏管将来分化为输卵管,子宫等雌性生殖道,吴夫氏管则分化为输精管,副睾等雄性生殖道。所以,正常雄性或雌性只应含有一套生殖导管,另一套退化。牟勒氏管的退化是由胚胎时期精巢足细胞分泌的牟勒氏管抑制因子(Müllerian inhibitory substance, MIS)引起,随后精巢间质细胞(Leydig 细胞)分泌睾酮诱导吴夫氏管发育为雄性生殖器官;若没有精巢,也就没有MIS和睾酮,则吴夫氏管退化,同时形

成了适宜牟勒氏管发育的环境,牟勒氏管发育为雌性生殖器官。

由此可见,MIS和睾酮使雄性性别分化先于雌性性别分化,雄性表型的出现得助于睾酮,睾酮由精巢分泌。那么又是什么决定了精巢的发育呢?研究表明,Y染色体性别决定区(Sex-determination Region Y, SRY)是核心,SRY直接诱导精巢发育。

目前发现,性别决定过程中有三种基因调

\* 本文由山东大学跨世纪人才基金资助;

第一作者介绍:邓 恹,女,24岁,硕士;

收稿日期:1997-03-24,修回日期:1997-06-20