

中国对虾精子和卵子受精能力的初步研究

PRELIMINARY STUDY OF INSEMINATION ABILITY OF *Penaeus chinensis*

孔杰 麦明 王清印 刘萍 王印庚 杨丛海

(中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266003)

1973年,Clark等以褐对虾(*Penaeus aztecus*)为实验材料,将解剖的卵子和精子混合,首次在非鞭毛型不动精子的人工授精研究中获得受精卵,受精率为10%^[2]。1986年,Min-Nan Lin等在雌虾产卵时,将精子滴入产卵池中使卵子受精,孵化率高达63.11%^[1]。

关于中国对虾(*Penaeus chinensis*)精子和卵子受精能力的研究还未见报道。精卵的受精能力直接决定受精率,而受精率的高低影响苗种生产。因此,进行对虾精子和卵子受精能力的研究有利于对受精过程的进一步了解,以便更好地服务于生产。

笔者于1990年4~6月,利用滴管授精技术^[1],对精子和卵子的受精能力进行了初步的研究和探讨。并对精子入卵的最佳时机进行了探讨和分析。

1 材料和方法

实验材料选用了春季海捕交尾雌虾。亲虾捕回后,在室内水泥池中进行成熟培养,温度控制及日常管理按

1995年第2期

常规方法进行。

精子取自交尾雌虾纳精囊。卵子是解剖性腺完全成熟的雌虾,取自卵巢。人工授精方法选用滴管法,首先将卵子(或精子)置于海水中,经过不同时间后吸入精子(或卵子)。精卵混合30s后,将精卵混合液移入盛有过滤海水的培养皿中,海水温度15℃。30min后换水3~5次。2h后随机取样,统计受精率。

1.1 精卵在置于海水前受精能力的检验

解剖出的精子和卵子分别置于不同的培养皿内,培养皿盖内衬以湿润的滤纸以维持一定的湿度,贮在4℃条件下(其中一组精子的实验贮存在15℃条件下)。不同时间以后,混合精子和卵子进行人工授精。在测量卵子(精子)的受精能力时,选用刚解剖出的精子(卵子)与其受精,根据受精率判断精、卵在上述条件下经过不同时间后受精能力的变化情况。

收稿日期 1994年4月25日

1.2 精卵在置于海水后受精能力的检验

首先将刚解剖出的精子(卵子)置于海水中,经过不同时间以后加入刚解剖的卵子(或精子),根据受精率,判断精、卵入海水后受精能力的变化。

2 实验结果

实验表明,精子和卵子无论是在置于海水前的培养皿内还是置于海水中以后,其受精能力均能维持一定的时间。两者相比,精子的受精能力持续的时间比卵子长,而精子和卵子的受精能力在培养皿中分别比在海水中持续的时间长得多。

2.1 置入海水前在培养皿中的受精能力

受精结果表明(图1),卵子在培养皿中的受精能力呈逐渐下降的趋势。受精率的变化可分为三个阶段。30min以内,受精率较高且变化较小。卵子刚解剖出体外时的受精率为55.9%,30min时的受精率为44.7%。在30~60min期间,卵子的受精率有一快速减弱的过程,60min时的受精率降至2.9%。自60min起至90min,卵子受精率维持在较低水平。120min时的受精率为0,卵子失去受精能力。

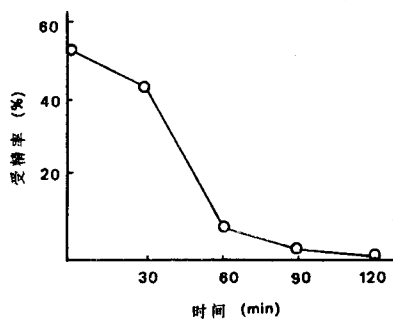


图1 卵子的受精能力在培养皿中的变化

表1 精子的受精能力在培养皿中的变化

精子	保存时间 (h)	受精卵 (个数)	未受精卵 (个数)	受精率 (%)
纳精囊精子	0	67	48	58.3
4℃体外保存	24	17	73	18.9
15℃体外保存	12	1	500	0.2

在培养皿中,精子的受精能力随着时间的推移也呈下降趋势,并且环境温度对受精能力的影响很大。如表1所示,精子刚从纳精囊中取出时受精率为58.3%,12h后,受精率降至0.2%(环境温度为15℃)。而较低的温度

有利于精子的受精能力持续较长的时间。在4℃的条件下,24h后精子的受精率仍达18.9%。

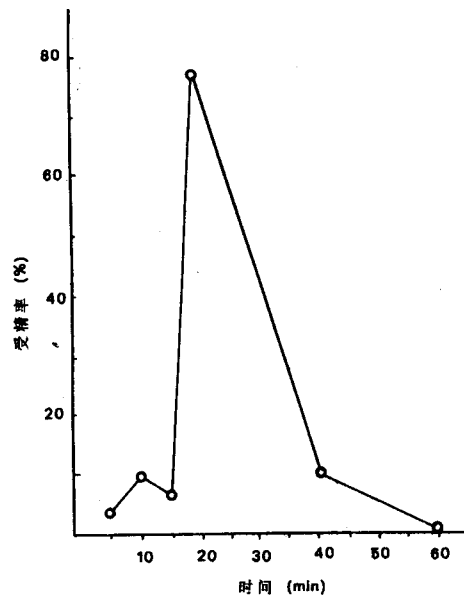


图2 卵子的受精能力在海水中的变化

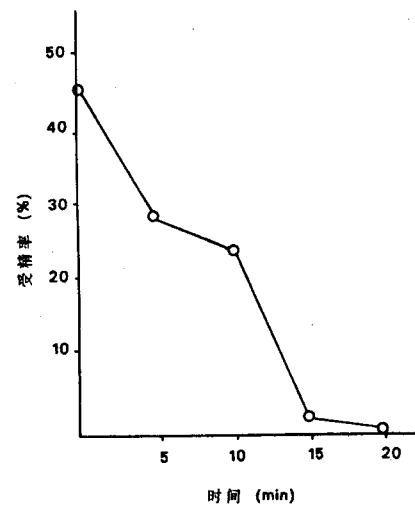


图3 精子的受精能力在海水中的变化

2.2 精卵置于海水后的受精能力

卵子的受精能力在海水中持续的时间较短,且受精能力的变化呈抛物线状(图2)。从图2可以看出,卵子入海水5s时,受精率为10%,15s时受精率为13.8%,在

此期间受精能力变化不大。当卵子入海水 20s 时,受精率达到峰值,为 77.8%。40s 时,卵子的受精率下降到 9.7%,到 60s 时,受精率降至 1.1%。80s 时仍有少量的卵子受精(0.2%)。当达到 120s 时,卵子已不能受精,失去受精能力。

与卵子相比较,精子的受精能力在海水中持续的时间较长,但受精能力是一逐渐减弱的过程(图 3)。精子入海水 1min 时,受精率为 48.2%,从 2min 始,受精率降低,受精能力减弱。2~10min,受精率徘徊在 20~30% 之间,受精能力较恒定。当精子在海水中的时间超过 10min 时受精率下降较快。15min 时的受精率为 1.0%,20min 时为 0.5%。此后,精子的受精能力较弱,但仍有少量精子具有受精能力。

3 讨论

贮存在培养皿中的精子和卵子是如何失去受精能力仍然是有待研究的问题。根据观察,在培养皿中,卵子形态变化的主要特征是皮质棒区变得模糊不清。这可能与卵子本身的代谢作用有关,并且这种作用对卵子的受精能力影响大,时间性较强。实验结果表明,卵子贮存于培养皿中 30min 前后,受精率由 44.7% 降至 2.9%。

精子的受精能力在培养皿中持续的时间比卵子长。虽然温度对受精能力持续的时间有较大影响,但目前还不清楚温度是通过哪种途径而产生影响。

对虾精子也像许多水生生物的精子一样,在没有卵子存在的情况下,入海水后发生顶体反应^[3],并因此而失去受精能力。发生顶体反应的精子越多,受精能力越弱,但顶体反应是否是降低精子受精能力的唯一因素,是否还有其他的因素也同时影响精子的受精能力,还有待进一步的研究。

在与海水相接触的一瞬间起,卵子就发生皮质反应。卵子在海水中不同时间的受精能力的变化与卵子的皮质反应的过程紧密相关。卵子入海水后的 20s 以前,皮质棒头部刚刚开始外伸,此时只有少量的卵子受精。20s 左右,皮质棒头部刚伸出,此时卵子的受精能力达到高峰。皮质棒完全放出后,皮质棒膨大,形成不定形的胶质层。胶质层的存在阻挡精子进入卵子,因此卵子的受精能力逐渐降低。在 120s 时,卵子失去受精能力。

参考文献

- [1] 孔杰、麦明等,1992. 海洋水产研究 13:1~5.
- [2] Clark, W. H. Jr., Talbot, P., Neal, R. A., Mock, C. R. and Sler, B. R., 1993. *Marine Biology* 22: 353-354.
- [3] Griffin, F. J., Shigkawa, K. and Clark, W. H. Jr., 1988. *The Journal of Experimental Zoology* 246: 94-102.
- [4] Lin, M. N. and Ting, Y. Y., 1985. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries* 52(4): 585-589.