

三倍体萍乡肉红鲫的精子入卵及胚胎发育观察

洪一江^{1,2} 王 静² 王军花² 桂建芳¹

(1. 中国科学院水生生物研究所;淡水生态与生物技术国家重点实验室;中国科学院研究生院;武汉 430072;

2. 南昌大学生命科学学院,南昌 330047)

摘要:用扫描(SEM)和透射电子显微镜(TEM)观察了天然三倍体萍乡肉红鲫成熟卵子卵壳、受精孔、精子进入区以及卵子质膜表面的细微结构,观察了两种不同交配组合:(A组)萍乡肉红鲫(♀)×萍乡肉红鲫(♂)与(B组)萍乡肉红鲫♀×兴国红鲤♂的受精早期精子入卵的时序,卵子质膜表面和卵子皮层的变化。结果表明,两种不同交配组合的精子入卵时序、皮层颗粒释放和卵子表面的变化基本类似。同时观察了这两种不同组合的胚胎发育时序,水温在16℃以上才能正常发育,最适发育水温为20—25℃。结果表明,两种不同组合在出膜时间和胚胎发育的总积温方面存在差异,水温对胚胎发育的影响很大。

关键词:萍乡肉红鲫;受精;精子入卵;胚胎发育

中图分类号:Q172

文献标识码:A

文章编号:1000-3207(2005)05-0518-06

有关鱼类受精的细胞学研究,国内外已有诸多报道^[1-5]。尽管硬骨鱼类精子入卵的方式基本一致,但不同种的鱼显示出特异性。三倍体萍乡肉红鲫是在江西省萍乡发现的一个新的天然三倍体鲫鱼种群。该鱼在野生状态下个体小,生活于小河和小溪中,在当地曾被当作野杂鱼而不被重视。作者于1997年开始对其人工选育,分析了其肌肉营养成分^[6],到目前已经获得了第6代,正在形成一个纯系。经过两年的养殖其个体体重可达400g以上,具有经济价值。该鱼体呈肉红色,鳞片透明,可见鳃丝和内脏,具有较为独特的遗传特征。对其染色体组成和雌雄性比等遗传背景和种群特征进行了初步研究,发现其染色体众数为150±,雌雄性比为8—10:1,DNA含量等特征均类似于银鲫^[7]。因此,有必要对这一新的天然三倍体鲫鱼的发育和遗传基础进行研究。本文的研究目的是通过观察其精子入卵前后的卵子变化及其胚胎发育规律,以进一步了解该鱼的遗传背景及其生殖方式。

1 材料和方法

1.1 材料 萍乡肉红鲫亲鱼选自江西省萍乡市水产科学研究所,体重150—200g,体侧扁,呈纺锤形,

鳃盖透明,鲜红鳃丝清晰可见;全身披鳞,鳞片透明,可见肌肉、脊柱、内脏、肠管的轮廓,尤其是幼鱼,通体透明。兴国红鲤亲鱼取自国家级兴国红鲤良种场,所有亲本均无病无伤。实验设计的不同交配组合分别为:A组:萍乡肉红鲫(♀)×萍乡肉红鲫(♂),B组:萍乡肉红鲫♀×兴国红鲤♂,A、B两组均设三个平行组。

1.2 人工干法授精及材料固定 亲鱼按一定剂量注射绒毛膜促性腺激素后放入产卵池,发情后,将亲鱼提起,人工干法授精,使流出的卵粒和精液混合滴在准备好的瓷盘内,盘内已铺满干净的载玻片(25mm×9mm)。迅速用已曝气的井水将卵粒冲散,均匀地粘着于玻片上。立即按预定的时间将载片上的受精卵连同载片一起浸入固定液中。凡用于电子显微镜观察的卵粒均固定于2.5%戊二醛,于4℃下固定;凡用于光镜观察的固定于10%中性福尔马林液中。观察胚胎发育过程,统计受精率,孵化率。

1.3 扫描电子显微镜样品制备 人工授精后5s到300s内按间隔时间分别固定一批材料,每批有50个以上的卵粒。卵粒用0.1mol/L的PBS(pH7.4)浸洗3次,每次1.5—2h,剥去卵壳后,再以相同的PBS缓

收稿日期:2005-03-08;修订日期:2005-04-12

基金项目:国家重点基础研究发展计划项目(2004CB117401);淡水生态与生物技术国家重点实验室项目开放课题;江西省教育厅项目(2003)等资助

作者简介:洪一江;博士,教授;主要从事鱼类及水产动物遗传育种学研究

通讯作者:桂建芳,E-mail:jfgui@ihb.ac.cn

冲液洗 30min,在常温下分别以梯度丙酮逐级脱水,醋酸异戊酯置换,在 HCP-2 型临界点干燥器中进行临界点干燥,真空喷镀黄金。在日立 S-570 型扫描电子显微镜下观察,加速电压为 20KV。每一批观察的卵粒数不少于 30 个。

1.4 透射电子显微镜样品制备

固定的样品同扫描电镜所用的样品,卵粒用 0.1mol/L PBS 彻底浸洗后,再用 0.1% 钨酸(0.1mol/L PBS, pH7.4)后固定 2h,用 0.1mol/L PBS 洗净后,以梯度丙酮脱水至纯丙酮,以上各步均在 4℃ 下进行。然后用 Epon 812 包埋剂包埋,切片厚度 50—80nm,用醋酸双氧铀和柠檬酸铅双重染色,在 H-600 透射电子显微镜下观察,电压 75KV。

1.5 胚胎发育观察 将 A、B 两组分别在三种温度下发育,一种为当时的自然水温,18—22℃,平均 20℃;另一种是人工控制水温 24—26℃,平均 25.0℃。第三种水温为 14—16℃。

2 结果

2.1 卵壳及其受精孔的微细结构

萍乡肉红鲫的成熟卵子为端黄卵,圆球形,黄绿色,直径约为 0.8—1.0mm,粘性。肉眼可见其外包一层透明的卵壳,动物性半球有一很小的凹点,为受

精孔所在的位置。卵壳厚约 6.0—6.5 μm ,可将其分为三层,中层为放射膜。SEM 下,卵壳外表有许多小孔,孔径在 0.2—1.0 μm 之间,大小和形态均不一致,排列无规则,动、植物性半球无明显差异。在 TEM 下,外层厚约 1.0—1.3 μm ,结构致密,胶质样,中层最厚,约 4.5—5.0 μm ,结构疏松,而在 SEM 下,由发达的纵向小管道(管径约 0.45—0.75 μm)和多排水平横向小管(管径约 0.28—0.35 μm)相互沟通,构成十分发达而又规则的疏松管道网络系统(图 1A);内层厚约 1.2—1.6 μm ,贯穿卵壳的纵向小管道穿过该层时变细(管径约 0.25—0.30 μm),并开口于内表面,该层亦有 4—6 排环绕卵壳的水平横管(管径约 0.20—0.25 μm)与纵向小管沟通,但该层结构较中层微密,内表面较为光滑,小孔开口大小基本一致,孔径约 0.20—0.25 μm ,排列规整,动、植物极无明显差异(图 1B)。

受精孔(图 1C)结构复杂,为一漏斗型结构,漏斗型凹陷部分为受精孔的前庭,前庭外缘直径约 50—70 μm ,精孔管呈倒锥型,其管腔有肋骨状或螺旋型皱褶凸出腔面,以连续的螺旋方式从外一直下旋至精孔管内口,内口直径约 2.5—3.0 μm ,精孔内口区域高度特化,凸向卵子质膜方向(图 1D)

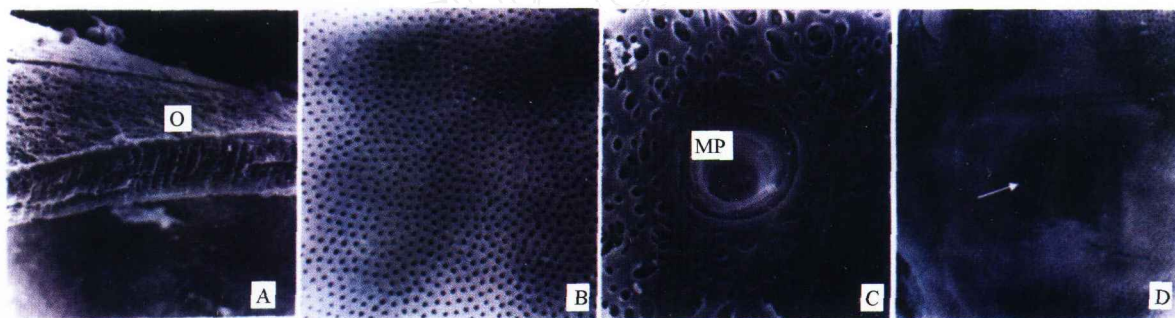


图 1 卵壳内外表面和受精孔的 SEM 观察。A. 卵壳横断面的 SEM 观,三层结构,O 为外表面,有小孔;B. 卵壳内表面的 SEM 观,小孔较为均匀;C. 受精孔外口(MP),漏斗型螺旋状结构;D. 示受精孔内口(箭头),直径(2.5—3.0 μm)仅稍大于精子头部(1.8—2.2 μm)

Fig. 1 SEM observation on egg chorion and micropyle. A. Three layer structure in the cross section of egg chorion, O means out surface with small pores. B. The inner surface with equal small pores. C. The out opening of micropyle (MP) with funneled and spiral structure. D. The inner opening (indicated by arrow) of the micropyle, and its diameter (2.5—3.0 μm) is a bit larger than the sperm head (1.8—2.2 μm)

2.2 质膜表面、精子进入区表面和卵子皮层的微细结构

剥去卵壳后的裸卵(Naked egg)在低倍 SEM 下观察,表面显得十分光滑。高倍 SEM 下,其表面由质膜衍化成的发育良好、浓密、粗细和长短不等的微绒毛构成,动、植物性半球无明显差异。动物极表面有一凹畦区域,范围约 35—50 μm ,受精孔内口区域的卵壳凸向该凹畦区,两者构成镶嵌状态,该区域即

为精子进入区(Sperm entry site)。精子进入区表面的微细结构高度特化,正中部分,即受精孔内口正下方的卵子质膜表面,有一簇特殊的乳突状突起,约有 15—20 根,成环排列(图 2A)。

卵质内有多层排列的皮层颗粒,以圆形或椭圆形为主,大小及其形态均不一致(图 2B),TEM 下,皮层颗粒可分为二种形态:第一种为含一大的高电子

密度的暗体,边缘有少量小泡状空泡的皮层颗粒;第二种皮层颗粒内主要为大片的均质电子密度物质构成,呈小泡状,皮层颗粒均为膜包颗粒(图 2C)。此外,皮层内有大量发达的线粒体,线粒体的内嵴发达,另外还有许多长囊状的内质网,糖原颗粒,多囊小体,溶酶体,核糖体等。

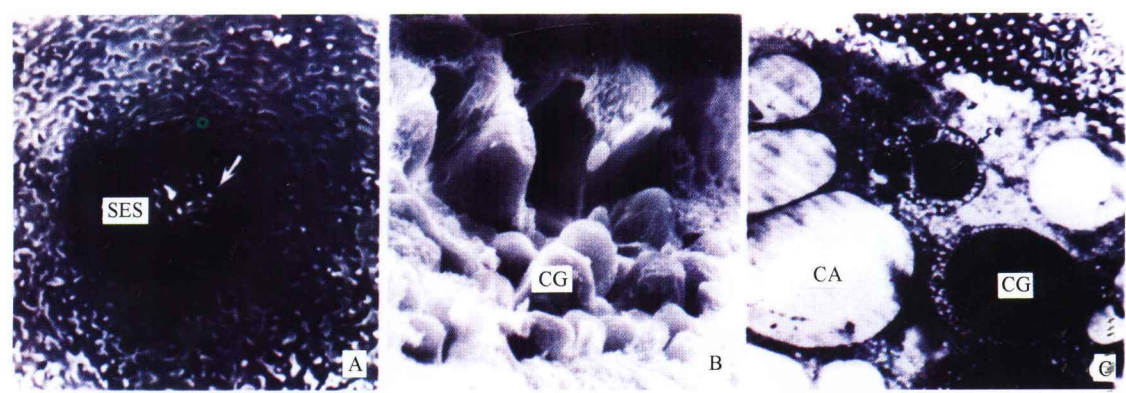


图2 精子进入区和卵子皮层的 SEM 和 TEM 观察。A. 精子进入区(SES)表面,箭头所指为乳突状突起;B. 示卵子皮层内大量的皮层颗粒,CG 为皮层颗粒;C. 示 TEM 下皮层颗粒的不同形态,CA 为含中央液泡状的皮层颗粒,CG 为中央含颗粒状小体的皮层颗粒,MC 为卵壳

Fig.2 SEM and TEM observation on sperm entry site and egg cortex. A. The surface of sperm entry site (SES) with some mastoids (arrow). B. Shows lots of cortical granules (CG) under plasma membrane. C. Shows the different forms of cortical granules under TEM with vacuole (CA) and granular body (CG) in center.

MC is the chorion

2.3 精子入卵时序及卵子的变化

由于 A、B 两组的精子入卵过程和卵子的变化相同或相似,以下仅对 A 组进行描述。

受精 5s 时,绝大多数卵子上至少已有一个精子

抵达精子进入区(图 3A)。从图 3A 可以看出,萍乡肉红鲫精子头部呈圆形,直径约 1.8—2.2 μm ,几乎全由细胞核占据,核物质高度凝聚,颈部不明显,尾部长约 10—15 μm 。5s 至 15s 时,从精孔管穿过卵壳

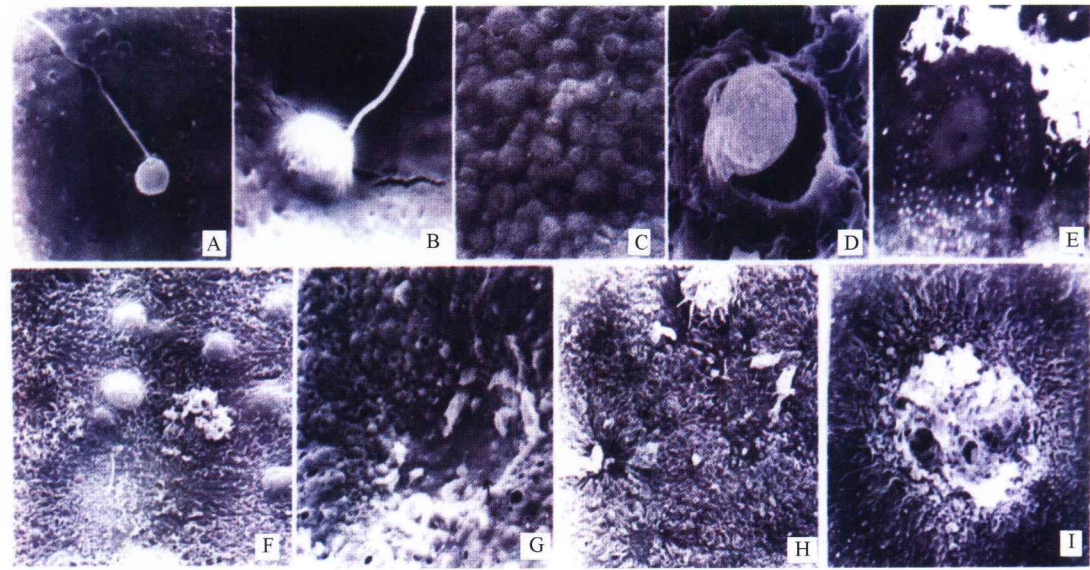


图3 精子入卵及皮层反应的 SEM(A-D,F-I)和 TEM(E)观察。A. 刚抵达精子进入区的精子。B. 精子以其赤道区表面与卵子质膜融合。C. 即将发生皮层反应的卵子表面,大量皮层颗粒移到质膜下方即将释放。D、E. 正在外排的皮层颗粒的 SEM(D)和 TEM 观察(E),CG 以完整的形式释放到卵周隙中。F、G. 精子进入区无皮层颗粒释放。H. 正在修复的卵子质膜表面。I. 精子进入区的重构变化

Fig.3 SEM(A-D,F-I)and TEM (E) observation on sperm penetration and cortical reaction. A. The sperm just touching the sperm entry site. B. The sperm with its equator area confused with egg plasma membrane. C. Numerous CG under plasma membrane waiting to discharge. D. CG was discharged to the egg peri-space with an intact form by SEM and TEM(3E). F and G show the surface of the sperm entry site without CG releasing action. H. Reconstruction on egg plasma membrane after CG was discharged. M. Reconstructing change on surface of the sperm entry site

膜抵达卵质膜表面的精子以其头部首先与卵子质膜接触,继而发生融合(图 3B)。在卵子的动物性半球大片区域出现隆起,大量的皮层颗粒已移至卵子质膜下方,即将开始释放(图 3C)。受精后 15s 至 30s,精子头部已有 1/3 以上进入卵质内,方向不变。皮层颗粒以完整的形式释放到卵子表面(图 3D、图 3E),皮层反应从动物极开始迅速传向植物性半球。此时卵质膜表面原先良好的微绒毛构造已不存在。受精 30s 到 60s 后,受精孔内仍有许多精子,但不再有更多的精子穿过受精孔内口抵达精子进入区表面;精子头部已大半入卵。受精后 60s 到 240s 的受精卵上,可见精子进入区内出现许多球状胞质隆起,但未见皮层颗粒的释放(图 3F),卵子表面布满皮层颗粒释放内含物后留下的蜂窝状的空囊袋(图 3G)。受精 240s 到 300s 后,可见卵子质膜表面处于不同重组修复阶段的景象。皮层颗粒内含物释放完后留下下来的空囊袋,逐渐上移到与质膜相平的位置,两膜的边缘开始形成辐射状或花瓣状折褶,并逐渐构成良好的微毛。重组后的卵子质膜表面,其微绒毛比未受精卵子质膜衍化而成的微绒毛显得粗短,而且大小及形态均不一致(图 3H)。受精后约 300s 可见精子进入区出现较大重构现象,其范围覆盖整个精子进入区(图 3I)。

2.4 胚胎发育时序

人工控制 3 种水温,第一种为自然状态下的低水温为 18—22℃(平均 20℃),第二种为高水温 24—26℃(平均 25℃),第三种是 14—16℃。不同水温下的 A、B 两组的胚胎发育过程基本相同,但 16℃ 以下,所有的胚胎都无法发育到原肠中期。A 组在低水温下,自受精到出膜的时间为 76.67 ± 3.2 h,高水温下仅需 66.6 ± 4.8 h;B 组在低水温下,自受精到出膜的时间为 80.4 ± 5.1 h,高水温下需 72.8 ± 3.8 h(图 4)。

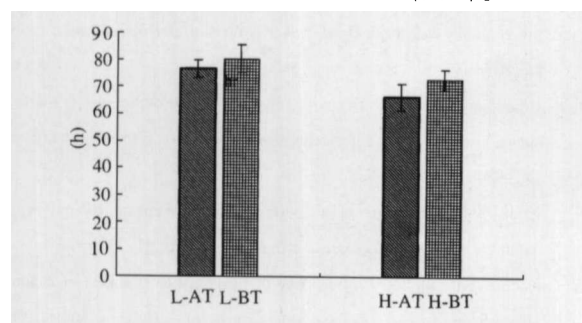


图 4 两种温度下 A 组和 B 组孵化时间的比较。L-代表低温组, H-代表高温组, AT 代表 A 组的孵化时间, BT 代表 B 组的孵化时间

Fig.4 Comparison of hatching time between group A and group B. L-means the low temperature condition, H-means the high temperature condition. AT means the hatching time of group A, BT means the hatching time of group B

3 讨论

已有研究表明,引导硬骨鱼类精子入卵的因素主要是由受精孔的精子引导系统,包括化学因素^[8]和受精孔本身的涡旋卷吸等系统组成^[9,10]。杨书婷等^[11]发现银鲫和彩鲫卵壳蛋白组分存在差异,还证实这些差异蛋白在受精 5min 之后大都发生了变化,结果提示银鲫卵壳差异蛋白极有可能参与了受精过程。萍乡肉红鲫的卵壳上同样存在具有类似涡旋状结构的受精孔,因此,精子和卵子相遇后,受精 5s 后便能够迅速地穿过受精孔抵达精子进入区表面,只有与精子入卵位点接触的精子才能成为受精的精子,并与卵子质膜上的精子进入区融合。

萍乡肉红鲫的精子进入区表面有一簇特殊的卵质短突,为精子入卵位点,其特殊结构与 *Fundulus heteroclitus*^[12]、*Cyprinus carpio*^[13]、*medaka*^[2,14]、*Rhodeus ocellatus*^[15]等的精子入卵位点的结构类似。Kudo^[13,16]对鲤, Brummett 等^[12]对 *Fundulus heteroclitus* 的精子入卵的研究发现卵质突伸入精孔内口基部,入卵的精子在精孔内口便接触到了精子入卵位点。在 SEM 观察下,萍乡肉红鲫并无卵质突出伸入受精孔内口,这和 *Brachydanio rerio* 类似^[17]。对于精子入卵过程中是否有卵质膜伸出的微绒毛参与存在争议。Kudo^[18]对鲤精子入卵的研究认为:卵子质膜伸出微绒毛将精子头部包住并将其拖入卵内;Brummett 对 *Fundulus heteroclitus*, Kobayashi^[18]对大马哈鱼等的精子入卵的研究中未发现有微绒毛的参与。正在入卵的萍乡肉红鲫头部在 SEM 观察下,其外表显得较粗糙,但因在 TEM 下未找到相应的部位,因此还无法确定是否有微绒毛参与了精子入卵的活动。

而对于单精受精的机制,不少学者都提出了看法,主要集中在以下几个方面:卵壳及受精孔的结构,受精锥的形成,皮层颗粒内含物的释放,而对精子进入区微细结构的变化在阻止多精受精中的作用报道不多。多数鱼卵的受精孔内口口径仅稍大于精子头部,显然,卵壳及受精孔是阻止多精入卵的第一道屏障。然而,包括萍乡肉红鲫在内,许多种鱼都会有多个精子进入卵周隙的现象发现^[2,13,14]。就萍乡肉红鲫来说,受精后卵壳上的精孔管并未很快封闭和收缩,因此,阻止多精受精的主要因素可能并不在受精孔。Iwamatsu 对 *Oryzias latipes*, Ohta^[19]对 *Rhodeus ocellatus* 的裸卵进行了多精受精研究,发现精子可以从裸卵的任何部位入卵。此外,关于受精锥在阻止多精入卵方面的作用也存在不同看法,主要原因是受精锥形成和消失的时序有差异。在

Oryzias latipes^[2] 和 *Fundulus heterolitus*^[12] 中,精子头部在受精锥形成前已完全进入卵质内,而在鲤属 (*Cyprinus*) 的精子头部在受精锥形成的同时入卵^[2]。Kobayashi^[15] 用人工激动的方法使大麻哈鱼的卵子在水中产生激动,发现也会形成受精锥,并且完全类似于受精卵的受精锥。Ohta^[19] 在研究 *Rhodeus ocellatus* 的裸卵多精受精时发现形成的“受精锥”在大小及内部结构上也类似于单精受精时形成的受精锥,只是单精受精形成的受精锥会回缩,而多精受精的“受精锥”不回缩,以后会发生丢失。对萍乡肉红鲫精子入卵过程的观察始终未找到受精锥的形成,至少不明;相反,在精子入卵位点附近出现的许多球形胞质隆起,在 SEM 下其外形有些类似于 *Oryzias latipes* 的受精锥^[2],且它们在精子头部完全入卵后很快消失。由此可见,受精锥在不同鱼类中的大小、形态、出现和消失的时序均不一致。就萍乡肉红鲫而言,其精子进入区发生的最大变化是受精后 5min 左右时发生的重构变化,整个区域被涌出的内容物所改变。这种变化可能预示着皮层反应的结束,将多余进入受精孔的精子阻止于卵质之外。这种变化的机制可能与包括 C-型凝集素在内的皮层颗粒释放^[20] 有关,也可能是受精孔区域的质膜重构所致。

关于萍乡肉红鲫的胚胎发育,自受精卵到出膜为止,形态发生基本上与其他鲤科(鲤和鲫)鱼类相似,仅是发育至各阶段的时间有区别。温度对胚胎发育的影响很大,对在实验室内几组不同温度下的胚胎发育的结果进行了对比(图 4),在水温 16℃ 以下,胚胎不能存活;在水温 18—22℃ (平均 20.0℃) 时, A 组自受精到出膜共历时 76h 40min, B 组为 80.4h,而在水温为 24—26℃ (平均 25.0℃) 下,发育的时间大大缩短, A 组仅需 66h 36min, B 组仅需 72.8h。表明胚胎发育过程中,各器官在不同的温度下分化形成的速度差异很大,且用兴国红鲤精子受精的 B 组比用萍乡肉红鲫自身雄鱼精子受精的 A 组所需的胚胎发育时间要长,这意味着这两组可能存在不同的发育方式,进一步研究将有可能揭示其生殖应答机制。

参考文献:

- [1] Breining T, Britz R. Egg surface structure of clingfish species, using scanning electron microscopy. *Journal of Fish Biology*, 2000, 56: 1129—1137
- [2] Iwamatsu T, Onitake K, Yoshimoto Y, et al. Time sequence of early events in fertilization in the medaka egg. *Development Growth and Differentiation*, 1991, 33: 479—490
- [3] Rizzo E, Sato Y, Barreto B P. Adhesiveness and surface patterns of eggs in neotropical freshwater teleosts. *Journal of Fish Biology*, 2002, 61: 615—632
- [4] Linhart O, Kudo S. Surface ultrastructure of paddlefish eggs before and after fertilization. *Journal of Fish Biology*, 1997, 51: 573—582
- [5] Zhao Z S, Cao G Q, Huang F, et al. Fertilization Cytology of *Carassius auratus* Pengzenensis. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 1999, 8(1): 25—30 (赵振山, 高贵琴, 黄峰, 彭泽. 鲫的受精细胞学. 上海水产大学学报, 1999, 8(1): 25—30)
- [6] Hong Y J, Hu C Y, Zhang Z P. Muscle nourishment content analysis on Pingxiang red silver crucian carp (*Carassius auratus* sp.). *Water Conservancy*, 2001, 5: 27—29 (洪一江, 胡成钰, 张忠萍. 萍乡肉红鲫肌肉营养成分分析. 水利渔业, 2001, 5: 27—29)
- [7] Hong Y J, Yu Z J, Zhou L, et al. A population of red-transparent, triploid *Carassius auratus*. *Journal of Fish Biology*, 2005 (in press)
- [8] Ding J, Shan S X, Ge W, et al. Study on the mode of primary control in the egg of gynogenetic crucian carp for inhibiting the development of two types of sperm nuclei. *Science in China (Series B)*, 1992, 35 (7): 802—810 (丁军, 单仕新, 葛伟, 等. 银鲫卵对两类精核发育的初级控制作用模式的研究. 中国科学 B 辑, 1992, 35(7): 802—810)
- [9] Wu K M, Song H C, Shen Q Z. The Mathematical model of sperm guidance system of micropyle of the teleost. *Journal of Applied Sciences*, 1999, 17(1): 83—91 (吴坤明, 宋慧春, 沈其璋. 真骨鱼类受精孔精子引导系统的数学模型. 应用科学学报, 1999, 17(1): 83—91)
- [10] Wu K M, Song H C, Shen Q Z. Dynamic mechanism of the sperms entering into the teleost eggs. *J. Applied Sciences*, 1998, 13(1): 104—110 (吴坤明, 宋慧春. 真骨鱼类受精孔奇异结构的数学建模. 生物数学学报, 1998, 13(1): 104—110)
- [11] Yang S T, Gui J F. Comparative analysis on the protein composition of egg chorin between gynogenetic silver crucian carp and gonochoristic color crucian carp and the changes during fertilization. *Hereditas*, 2002, 22(4): 221—224 (杨书婷, 桂建芳. 雌核发育银鲫与两性生殖彩鲫卵壳蛋白组分的比较分析及其受精前后的变化. 遗传, 2000, 22(4): 221—224)
- [12] Brummet A R, Dumont J N. Initial stages of sperm penetration into the egg of *Fundulus heteroclitus*. *Journal of Experimental Zoology*, 1979, 210: 417—434
- [13] Kudo S. Sperm penetration and the formation of a fertilization cone in the common carp egg. *Development Growth and Differentiation*, 1980, 22: 403—414
- [14] Iwamatsu T, Ohta T. Scanning electron microscopic observations on sperm penetration in teleostean fish. *Journal of Experimental Zoology*, 1981, 218: 261—277
- [15] Kudo S. Ultrastructure of a sperm entry site beneath the micropylar canal in fish eggs. *Zoological Magazine*, 1982b, 91: 213—220
- [16] Kudo S, Sato A. Fertilization cone of carp eggs as revealed by scanning electron microscopy. *Development Growth and Differentiation*, 1985, 27: 121—128
- [17] Hart N H. Fertilization in teleost fishes: Mechanisms of sperm-egg interactions. *Int. Rev. Cyt.*, 1990, 121: 1—66
- [18] Kobayashi W, Yamamoto T S. Fine structure of micropylar apparatus of the chum salmon egg, with a discussion of the mechanism for blocking

- polyspermy. *Journal of Experimental Zoology*, 1981, 217: 265—275
- [19] Ohta T & Iwamatsu T. Electron microscopic observations on sperm entry into eggs of the rose bitterling, *Rhodeus ocellatus*. *Journal of Experimental Zoology*, 1983, 227, 109—119
- [20] Dong C H, Yang S T, Yang Z A, Zhang L, Gui J F. A C-type lectin associated and translocated with cortical granules during oocyte maturation and egg fertilization in fish [J]. *Developmental Biology*, 2004, 265(2): 341—354

OBSERVATION ON SPERM PENETRATION AND EMBRYONIC DEVELOPMENT OF TRIPLOID PINGXIANG RED-TRANSPARENT CRUCIAN CARP

HONG Yi-Jiang^{1,2}, WANG Jing², WANG Jun-Hua² and GUI Jian-Fang¹

(1. State Key Laboratory of Freshwater Ecology and Biotechnology; Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences; Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072;

2. Department of Bioscience and Technology, Nanchang University, Nanchang 330047)

Abstract: Pingxiang red-transparent crucian carp is a red and transparent mutant discovered from natural rivers in Pingxiang of Jiangxi Province, and has been identified to be triploid by DNA content measurement and chromosome analysis. In this study, the fine structures of chorion, micropyle, sperm entry site and plasma surface of its eggs were observed by SEM and TEM. In the meantime, the time sequence of sperm penetration, changes of the egg surface, cortical reaction, and formation and confusion of female pronucleus and male pronucleus were also observed on two different mating groups. Group A is Pingxiang red-transparent crucian carp (♀) × Pingxiang red-transparent crucian carp (♂), and group B is Pingxiang red-transparent crucian carp (♀) × Xingguo red comm. on carp (♂). Similar processes on sperm penetration, egg surface change and cortical reaction were observed between the two different mating groups.

The process of embryonic development was observed in the two different groups. Embryos can develop normally only above 16°C, and the optimal temperature for the embryonic development ranges from 20°C to 25°C. The data indicate that some differences exist in fertilization rate, hatching time, hatching rate and accumulate-temperature between the two different groups, and the water temperature is a main influence factor on the embryonic development.

Key words: Pingxiang red-transparent crucian carp; Fertilization; Sperm penetration; Embryonic development