

Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^{+} 及胰蛋白酶和胰蛋白酶抑制剂对中国对虾卵子激活的影响*

吴长功 张晓军 相建海 周令华 刘瑞玉

(中国科学院海洋研究所)

对虾成熟卵子的激活都是由海水引起的,海水的刺激引起成熟的卵母细胞发生皮层反应,完成减数分裂,这一过程同有无精子的作用无关(Clark *et al.*, 1977, 1980; Lynn *et al.*, 1991; Pillai *et al.*, 1987)。在对锐脊单肢虾(*Sicyonia ingentis*)的卵子激活研究中发现,其成熟卵子无论受精与否在接触海水以后均具有相同的激活过程,受精卵和未受精卵的皮层反应及减数分裂的恢复没有区别,而海水中刺激卵子发生皮层反应直接因子是 Mg^{2+} 而不是 Ca^{2+} 。在无 Mg^{2+} 人工海水中,锐脊单肢虾的卵子不能激活;而在无 Ca^{2+} 人工海水中,卵子则可正常激活(Pillai *et al.*, 1987; Lindsay *et al.*, 1992a)。 Mg^{2+} 对锯额长臂虾(*Palaemon serratus*)卵子减数分裂的影响的研究表明,锯额长臂虾卵子减数分裂的恢复必须有 Mg^{2+} 参与,而 Ca^{2+} 则是非必须的;胞外 Mg^{2+} 可以诱导卵子的皮层反应,并使卵膜外的微绒毛消失;胞外 Mg^{2+} 的增加可使卵子内部游离 Ca^{2+} 浓度发生变化,从而诱导卵子的激活(Goudeau *et al.*, 1986, 1991, 1996)。

根据前人的报道,胰蛋白酶和胰蛋白酶抑制剂对对虾精子的顶体反应、卵子的激活都具有明显的影响(Lynn *et al.*, 1987; Griffin *et al.*, 1990; Lindsay *et al.*, 1992b; Chen *et al.*, 1994)。Lynn 等(1987)报道褐对虾(*Penaeus aztecus*)的卵胶前体(jelly precursor)含有约 70%—75% 的蛋白质及 25%—30% 的多糖,胰蛋白酶对于人工分离的卵胶前体具有明显的降解作用,胰蛋白酶抑制剂可以抑制卵子在海水中的激活。Griffin 等(1990)的研究发现,锐脊单肢虾的卵子内含有类胰蛋白酶的物质,解剖性成熟雌虾获得的卵子置入海水中摇匀,上清液-卵水(egg water)可以诱导取自雌虾纳精囊内的精子发生顶体反应,胰蛋白酶也可以诱导对虾精子的顶体反应,而胰蛋白酶抑制剂则完全可以抑制对虾精子在人工海水中发生顶体反应时顶体丝的形成。Lindsay 等(1992b)的研究也得出了类似的结果,并对卵水和胰蛋白酶不同浓度及不同作用时间下对对虾精子顶体反应的诱导作用进行比较研究。Chen 等(1994)对锐脊单肢虾精子的提取物进行生化分析发现,精子内部也有类胰蛋白酶的物质,并通过免疫电泳技术将其进行定位,精子的提取物可以降解分离的

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 3391 号;国家自然科学基金项目,39670579 号;国家攀登 B 项目(PDB6-2)资助项目;中国科学院海洋研究所实验海洋生物学开放研究实验室资助项目。

收稿日期:1998 年 2 月 18 日。

卵黄膜。

激光扫描共聚焦显微镜(Laser scanning confocal microscope)在海洋动物的受精及发育生物学的研究中已有一些报道(Sardet *et al.*, 1992; Stricker *et al.*, 1992; Shen *et al.*, 1993; Jaffe, *et al.*, 1994; Malinda, *et al.*, 1994)。而在对虾的受精及发育生物学方面应用还比较少,只有锐脊单肢虾的卵子激活及早期发育的研究上有一些报道(Hertzler *et al.*, 1992, 1994; Lindsay *et al.*, 1992a)。

海水中的离子成分是影响卵子激活的关键因子,而胰蛋白酶和胰蛋白酶抑制剂对对虾受精也有着很大影响,这两方面的工作在国内、外中国对虾的受精生物学研究中均未见报道。

作者对上述两类理化因子对中国对虾卵子激活的影响进行研究,并使用激光扫描共聚焦显微镜对中国对虾卵子受胰蛋白酶和胰蛋白酶抑制剂的作用而发生的形态变化进行研究,初步分析了造成异常卵裂的原因。

一、材料和方法

1. 亲虾的获得与暂养

中国对虾越冬亲虾购于青岛海滨渔船上,暂养于海洋所水族楼 4t 水池中,饲喂活沙蚕,利用相建海等(1992)的方法人工诱导亲虾白天产卵。

2. 卵子的获得与处理

(1)不同离子成分的人工海水对卵子激活的影响 挑选卵巢成熟的亲虾放入预产池中,随时观察,看其有产卵行为即取出放入产卵池中。自卵子产入水中起立即用吸管吸取一定数量的卵子用人工配制含有不同离子成分的海水冲洗三次(表 1),然而放入相应的人工海水中。未受精卵解剖自正在产卵的对虾的卵巢,用剪刀剖开正在产卵的亲虾背部即有大量游离卵流出,将游离卵分别放入盛有人工配制含有不同离子成分的海水的烧杯中,轻轻摇动,使卵与海水充分混合。30min 及 60min 各取样一次观察卵子的激活情况。

表 1 不同人工海水的配方(pH8.2)(Goudeau, 1986)

人 工 海 水	组分(mM)							
	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Cl ⁻	Tris	EGTA	EDTA
正常人工海水	475	12	12	30	581	10	—	—
无 Ca ²⁺ 人工海水	475	12	—	30	567	20	0.5	—
无 Mg ²⁺ 人工海水	475	12	12	—	561	50	—	0.5
无 K ⁺ 人工海水	475	—	12	30	567	20	—	—
无 Ca ²⁺ 及 Mg ²⁺ 人工海水	475	12	—	—	557	70	—	—

(2)胰蛋白酶对卵子激活的影响 将对虾的卵子自产入海水中起。每隔 5min 取样一次,放入用正常海水配制的浓度为 0.1%的胰蛋白酶溶液中(Chen *et al.*, 1994),观察卵子的发育情况,同时分两组,并以不加胰蛋白酶的样品作对照,在相应的溶液中作用 30min 和 60min 后各取样两次,以消毒海水配制的 10%福尔马林固定。

(3)胰蛋白酶抑制剂对卵子激活的影响 将卵子放入含有 0.01%的胰蛋白酶抑制

剂的海水中(Chen *et al.*, 1994),其他方法同上。

(4)药品来源 胰蛋白酶及胰蛋白酶抑制剂均购自 SIGMA 公司,胰蛋白酶活力为 10400unit/mg。胰蛋白酶抑制剂每 1mg 可拟制 1.8mg 胰蛋白酶(1000unit/mg)。

3. 荧光染色与共聚焦操作

上述样品用 10%福尔马林固定,4℃冰箱保存备用或固定 1hr 后用蒸馏水洗三遍,洗去固定液,再加入蒸馏水配制的 Acridine orange (AO)或 Fluorescein isothiocyanate (FITC)进行荧光染色。AO 的浓度为 10μg/ml,室温染色 20min 以上;FITC 的浓度为 0.05μg/ml,染色 30min 以上,然后用磷酸缓冲液(pH7.4)洗去多余染料,将样品放在载玻片上,置于 Zeiss Axiovert 倒置显微镜载物台上,用 Bio-Rad 激光扫描共聚焦显微镜观察,以 Kr/Ar 离子激光为光源,激发光波长 488nm,发射光波长 522nm,倒置显微镜上的样品也可直接照相。

二、结 果

1. 不同离子海水对卵子激活的影响

中国对虾成熟卵子放入不同离子成分的人工海水中以后具有不同的反应。在无 Mg^{2+} 的人工海水中,中国对虾的卵子不能激活,既不发生皮层反应,也不能完成减数分裂,而且卵子也不能维持正常形态,常出现异形(图版 I, 1)。在无 Ca^{2+} 及无 K^{+} 的两种人工海水中,中国对虾的卵子可以被激活,发生皮层反应,并完成减数分裂(图版 I, 2, 3)。但在无 K^{+} 人工海水中可见到皮质棒消散不完全,而孵化膜可以正常形成并举起(图版 I, 3)。在无 Mg^{2+} 及 Ca^{2+} 的人工海水中,卵子不仅不能激活,且正常形态也不能维持,卵子发生解体,完整的皮质棒及大量卵黄颗粒散失在水体内(图版 I, 4)。海水中的不同离子对受精卵和非受精卵来说,都具有相同的作用,受精与否不能影响卵子的激活,而 Mg^{2+} 是卵子激活必不可少的外界因子。

2. 胰蛋白酶对卵子激活的影响

胰蛋白酶可以破坏胶质层的形成。在 18—20℃ 的海水中,中国对虾卵子胶质层的形成是在卵子产出后 3—5min 内形成的,所以在卵子产出 5min 后,胰蛋白酶对胶质层的形成没有影响,而刚产出的卵子受胰蛋白酶作用,其皮质棒边排出边被降解,完全没有正常卵子激活中排出的完整皮质棒及其后的消散过程,也不见有胶质层的形成,充分说明了胰蛋白酶对皮质棒的降解作用。在卵子产出后 20min 内,胰蛋白酶可以破坏孵化膜的形成,在孵化膜完全形成并举起以后,胰蛋白酶对孵化膜不能产生影响,且不影响减数分裂的继续进行,也不影响受精卵的卵裂。胰蛋白酶对卵子的作用时间越早,对孵化膜的形成的影响也越大,在卵子产出后 10min 内,可以使孵化膜完全不能形成,并对受精卵的卵裂有较大影响(图版 I, 9, 10)。而在 10—20min 内,胰蛋白酶可以部分影响孵化膜的形成,并使受精卵的卵裂出现异常(图版 I, 8)。而在正常卵子其产出后 10min 左右正是孵化膜形成的时期,而卵子产出后 10—20min 内则是孵化膜进一步硬化并举起的过程。可见胰蛋白酶在卵子产出后不同的时间内,对胶质层和孵化膜的形成及对卵裂的影响是不同的。

3. 胰蛋白酶抑制剂对卵子激活的影响

胰蛋白酶抑制剂可以抑制胶质层及孵化膜的形成, 并影响受精卵的卵裂, 且不同的作用时间对胶质层和孵化膜的形成及受精卵的卵裂有不同的影响。胰蛋白酶抑制剂直接作用于刚产出的卵子, 可抑制皮质棒的释放和消散, 孵化膜不能形成, 减数分裂不恢复, 卵子不能进行正常卵裂(图版 I, 6, 7)。皮质棒正在释放时, 卵子受到胰蛋白酶抑制剂的作用, 会使皮质棒的释放完全停留在刚作用时的状态(图版 I, 5), 皮质棒消散以后, 胰蛋白酶抑制剂对已形成的胶质层没有任何影响。与此相似, 孵化膜形成以前胰蛋白酶抑制剂可使孵化膜的形成停留在刚作用时的状态, 而孵化膜完全形成以后则不受胰蛋白酶抑制剂的作用, 对受精卵的卵裂也没有影响, 表明了孵化膜具有一个逐步形成和硬化的过程, 且完全形成以后具有抗胰蛋白酶抑制剂和保护受精卵的作用。

三、讨 论

研究表明, 中国对虾卵子的激活可受多方面因素的影响。就海水中的不同离子成分来说, Mg^{2+} 是卵子激活必不可少的, 且对维持卵子的正常形态具有重要的作用, 这一结果在对锐脊单肢虾及锯额长臂虾卵子激活的研究中都得到证实。Lindsay 等(1992a)的研究表明, 海水中的 Mg^{2+} 通过激发卵子内部 Ca^{2+} 的变化而引起卵子的激活, 在无 Mg^{2+} 的人工海水中使用 Ca^{2+} 载体 A23187 或显微注射 $3-5\mu\text{m}$ 的 Ca^{2+} 也能引起卵子内的 Ca^{2+} 波, 并激发卵子激活, 说明卵子内 Ca^{2+} 的升高及其后的波动是引起卵子激活的直接因素。卵外 Mg^{2+} 具有调节卵内 Ca^{2+} 的作用, 而且从卵子在正常海水中是单精受精, 而在无 Mg^{2+} 的人工海水中多精受精的现象非常普遍, 由此可判断 Mg^{2+} 诱导的 Ca^{2+} 波在调节精子入卵及防治多精受精方面具有重要作用。作者的研究结果表明, Mg^{2+} 在维持卵子完整的形态方面具有重要作用, 因此在无 Mg^{2+} 条件下, 很可能使卵子的膜结构受到破坏, 多精受精的机率得到提高。在对锯额长臂虾的研究中发现, Mg^{2+} 对卵膜外的微绒毛形态具有较大影响(Goudeau *et al.*, 1991), 但是有关 Mg^{2+} 对卵子膜的完整性及卵子超微结构的影响仍需深入研究, 这对于了解卵子在受精过程中阻止多精受精的机制具有一定的意义。卵外 Ca^{2+} 及 K^{+} 虽然未直接参与卵子的激活过程, 但研究表明 K^{+} 在卵子皮质棒的消散及胶质层的形成过程中具有重要作用, 在无 K^{+} 的人工海水中的中国对虾卵子在孵化膜形成以后仍有皮质棒未消散的现象已充分证明了这一点。

胰蛋白酶和胰蛋白酶抑制剂是两种对对虾精子的顶体反应及卵子激活具有明显作用的化学物质。而且无论在精子还是卵子中都已证明具有类胰蛋白酶的蛋白水解活性物质的存在, 前人对这类物质还进行了结构定位和生化分析(Lynn *et al.*, 1987; Griffin *et al.*, 1990; Lindsay *et al.*, 1992b; Chen *et al.*, 1994)。本研究结果则进一步表明, 胰蛋白酶和胰蛋白酶抑制剂对卵子的激活及卵裂都有影响。在孵化膜形成之前胰蛋白酶和胰蛋白酶抑制剂都可以影响卵子的激活, 且作用时间越早对卵子激活及受精卵的卵裂影响越大。胰蛋白酶抑制剂可使卵子的激活停止在任何一个过程, 比如可以抑制卵子的受精、皮质棒的释放及消散、孵化膜的形成及举起。胰蛋白酶的作用则是使皮质棒消散加速, 胶质层不能正常形成, 形成孵化膜的物质被降解, 卵子激活出现异常, 且在孵化膜举起之后也不起作用。以上结果表明, 形成胶质层及孵化膜的物质中含有可被胰蛋白酶抑制剂作用的物质, 也含

有可被胰蛋白酶分解的物质,这两类物质为何不相互作用则是一个非常值得研究的问题。根据对虾卵子激活的特点及前人的报道,可以推断这些物质并非同时释放,由于对虾卵子激活持续的时间约为 30min—40min,从受精到胶质层的形成再到孵化膜的形成,中间都有较大的时间间隔,且形成胶质层的物质贮存在皮质棒中,形成孵化膜的物质以皮层颗粒的形式贮存在皮层小泡中,在卵子内部都是以囊泡的形式贮存,因而不会出现相互作用的现象。但是有关这些物质的生化成分及释放机理仍需要作深入的研究,这对于了解受精及卵子激活的机理具有重要意义。

对虾卵子激活及卵裂是一些复杂的生理生化过程,其影响因素也是复杂的、多方面的。海水中的某些离子,特别是 Mg^{2+} 不仅是卵子激活所必要的,而且对于研究对虾卵子的特殊激活机理,尤其是未受精卵的激活机理亦具有很大的作用。而类胰蛋白酶物质则是卵子受精和激活中较为重要的一种生化物质,作者对这些特殊的理化因子对卵子激活的影响进行了研究,为进一步弄清对虾卵子激活及卵裂的特征及机制奠定了一定的基础。

参 考 文 献

- 相建海等,1992,中国对虾四倍体诱导的研究,海洋科学,4:55—61。
- Chen Tzyy-Ing *et al.*, 1994, Sperm penetration of the vitelline envelope of *Sicyonia ingentis* eggs is mediated by a trypsin-like lysin of acrosomal vesicle origin, *Develop. Growth. & Differ.* **36**(3):259—273.
- Clark, W. H. Jr. and Lynn, J. W., 1977, A Mg^{2+} dependent cortical reaction in the eggs of the penaeid shrimp, *J. Exp. Zool.*, **200**:177—183.
- Clark, W. H. *et al.*, 1980, Morphology of the cortical reaction in the eggs of *Penaeus aztecus*, *Boil. Bull.*, **158**:175—186.
- Goudeau, M. and Goudeau, H., 1986, The resumption of meiotic maturation of the oocyte of the prawn *Palaemon serratus* is regulated by an increase in extracellular Mg^{2+} during spawning, *Dev. Biol.*, **118**:361—370.
- Goudeau, M. *et al.*, 1991, Extracellular Mg^{2+} induced a loss of microvilli, membrane retrieval, and the subsequent cortical reaction, in the oocyte of the prawn *Palaemon serratus*, *Dev. Biol.*, **148**:31—50.
- Goudeau, M. and Goudeau, H., 1996, External Mg^{2+} triggers oscillations and a subsequent sustained level of intracellular free Ca^{2+} , correlated with changes in membrane conductance in the oocyte of the Prawn *Palaemon serratus*, *Dev. Biol.*, **177**:178—189.
- Griffin, F. J. and Wallis H. Clark, Jr., 1990, Induction of arosome filament formation in sperm of *Sicyonia ingentis*, *J. Exp. Zool.*, **254**:296—304.
- Hertzler, P. L. and Clark, W. H. Jr., 1992, Cleavage and gastrulation in the shrimp *Sicyonia ingentis*; invagination is accompanied by oriented cell division, *Dev.*, **16**:127—140.
- Hertzler, P. L., *et al.*, 1994, Mesendoderm cell and archenteron formation in isolated blastomers from the shrimp *Sicyonia ingentis*, *Dev. Biol.*, **164**:333—344.
- Lindsay, L. L. *et al.*, 1992a, Extracellular Mg^{2+} induces an intracellular Ca^{2+} wave during oocyte activation in the marine shrimp *Sicyonia ingentis*, *Dev. Biol.*, **152**:94—102.
- Lindsay, L. L. and Clark, W. H. Jr., 1992b, Protease-induced formation of the sperm acrosomal filament, *Develop. Growth & Differ.*, **34**(2):189—197.
- Lynn, J. W. and Clark, W. H. Jr., 1987, Physiological and biochemical investigations of the egg jelly release in *Penaeus aztecus*, *Biol. Bull.*, **173**:451—460.
- Lynn, J. W. *et al.* 1991, Comparative morphology and physiology of egg activation in selected penaeodea. Frontier in shrimp Research, P. DeLoach, *et al.* (eds.). Elsevier Science Publishers. B. V., Amsterdam.
- Malinda, K. M and Ettenson, C. A., 1994, Primary mesenchyme cell migration in the sea urchin embryo distribution of directional cues, *Dev. Biol.*, **164**:562—578.

- Pillai, M. C. and W. H. Clark, Jr., 1987, Oocyte activation in marine shrimp *Sicyonia ingentis*, *J. Exp. Zool.*, **244**:325—329.
- Sardet, C. *et al.*, 1992, Polarity of the ascidian egg cortex before fertilization, *Dev.*, **115**:221—327.
- Shen, S. S. and Buck, W. R., 1993, Sources of calcium in sea urchin eggs during the fertilization response, *Dev. Biol.*, **157**:157—169.
- Stricker, S. A. *et al.*, 1992, Confocal microscopy of fertilization-induced calcium dynamics in sea urchin eggs, *Dev. Biol.*, **149**:370—380.

EFFECTS OF Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, TRYPSIN AND SOYBEAN TRYPSIN INHIBITOR ON OOCYTE ACTIVATION IN *PENAEUS CHINENSIS**

Wu Changgong, Zhang Xiaojun,
Zhou Linghua, Xiang Jianhai, Liu Ruiyu
(Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences)

ABSTRACT

Effects of Mg²⁺, Ca²⁺ and K⁺ in artificial seawater and trypsin and soybean trypsin inhibitor (SBTI) on oocyte activation in *Penaeus chinensis* were studied in the spring in 1997. The results showed that Mg²⁺ was a necessary factor in oocyte activation, but Ca²⁺ and K⁺ were not. They had the same effects on fertilized and unfertilized eggs. Trypsin (0.1%) could dilute the jelly layer (JL) and hatching envelope (HE) and effect the normal cleavage of fertilized eggs. SBTI (0.01%) could completely inhibit oocyte activation and fertilization. Trypsin and SBTI had not effect on eggs 30min after the eggs were spawned. This showed that the completely formed JL and HE could protect against the effects of trypsin and SBTI. Laser scanning confocal microscope was used in comparative study on oocyte activation and cleavage characteristics of eggs in the test group and the control group.

* Contribution NO. 3391 from Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences.

图版说明

吴长功等: Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 K^{+} 及胰蛋白酶和
胰蛋白酶抑制剂对中国对虾卵子激活的影响

图版(Plate) I

1. 无 Mg^{2+} 人工海水中卵子不能激活, 正常形态被破坏, $\times 200$; 2. 无 Ca^{2+} 人工海水中可以正常激活的卵子, $\times 100$; 3. 无 K^{+} 人工海水中卵子可以激活, 皮质棒消散不完全, 孵化膜已经举起, $\times 100$; 4. 无 Mg^{2+} 及 Ca^{2+} 人工海水中卵子不能激活, 正常形态被严重破坏, 卵子已解体, $\times 100$; 5. 卵子产出后 2 分钟, 受 SBTI 作用皮质棒停止释放, $\times 300$; 6. 受 SBTI 的抑制作用而停留在不同激活状态的卵子, $\times 300$; 7. SBTI 抑制胶质层的消散及孵化膜的形成, 并使卵裂异常, $\times 200$; 8. 卵子产出后 15min 胰蛋白酶作用使胶质层消散, 孵化膜不完全消散, 卵裂出现异常, $\times 300$; 9. 卵子产出后 5min 受胰蛋白酶作用, 16 细胞期卵裂球表面扫描形态, 胶质层及孵化膜均消失, $\times 300$; 10. 卵子产出后 10min 受胰蛋白酶作用, 16 细胞期卵裂球表面扫描形态, $\times 200$

宋裕昌、侯兰英: 生长激素对中国对虾仔虾生长的影响

图版(Plate) I

1—2. 高盐度海水中的对虾仔虾鳃上皮

1. 高度肿胀的线粒体(M)和粗面内质网(re), 原生质膜形成褶曲断裂和膨大(箭头), $\times 15,000$; 2. 细胞基质疏松, 游离核糖体缺失, 核周隙扩大, 部分核外膜消失, 线粒体外膜消失(Δ), $\times 12,000$; 3. 用生长激素预处理 1h 以后, 再入高盐度海水仔虾鳃渗透压调节组织图像, 上部为鳃角质层(C), 下部为基膜(BM), $\times 48,000$; 4. 仔虾用生长激素预处理 1h 以后, 再入高盐度海水其鳃渗透压调节组织的高倍图像, $\times 12,000$

AL. 顶部质膜褶曲; BL. 基部质膜褶曲; BM. 基膜; C. 角质层; Fr. 游离核糖体; H. 血淋巴; H $\uparrow$. 渗透压调节组织与血淋巴接触处; M. 线粒体; N. 细胞核; re. 粗面内质网

刘锡兴等: 唇口目苔藓虫群体早期发育的演化意义

I. 软壁目膜孔苔虫科和琥珀苔虫科的群体
早期发育特点及一新属、六新种

图版(Plate) I

1. 假大室膜孔苔虫 *Membranipora paragrandidicella* 的双生初虫、围初虫及其后续个虫(比例尺 100 μm); 2. 相似膜孔苔虫 *Membranipora similis* 的双生初虫、围初虫及其后续个虫(比例尺 1mm); 3. 强壮帐苔虫 *Conopeum eriophorum* 的初虫、围初虫及其后续个虫(比例尺 300 μm); 4. 东方楯琥珀苔虫 *Aspidelectra orientalis* 的初虫和围初虫(比例尺 100 μm); 5. 厦门琥珀苔虫(新种) *Electra xiamenensis* Liu sp. nov. 群育重复初生带的个虫(比例尺 100 μm)

(图 1—4 中 a 表示初虫)

图版(Plate) II

1. 双刺假膜孔苔虫 *Membraniporopsis bispinosa* 的群育变化初生带, 包括初虫、围初虫及其后续个虫(比例尺

吴长功等: Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 K^{+} 及胰蛋白酶和胰蛋白酶抑制剂对中国对虾卵子激活的影响图版 (Plate)I

