

# 肝素及血小板激活因子对牛卵母细胞体外受精的影响

## Effects of Heparin and Platelet Activating Factor on the In Vitro Fertilization of Bovine Oocytes

石德顺                      卢克焕  
Shi Deshun                Lu Kehuan

(广西农业大学动物繁殖研究室, 南宁市秀灵路13号, 530005)

(Animal Reproduction Lab., Guangxi Agric. Univ., 13 Xiuling Road, Nanning, Guangxi, 530005)

**摘要** 在受精液中添加不同浓度的肝素(2, 6, 18, 54, 162, 486 mg/L)均能明显提高牛卵母细胞的受精分裂率(分别为83.6, 84.9, 85.7, 89.2, 84.5和90.2%, 比对照组73.6%,  $P < 0.05$ )和卵裂指数(授精后44~46 h 大于2-细胞的卵裂数占卵裂总数的百分率, 分别为85.7, 85.0, 89.9, 87.9, 87.4和85.5%, 比对照组57.6%,  $P < 0.01$ )。然而, 卵母细胞的囊胚发育率则仅当肝素浓度等于或大于18 mg/L时才明显提高(21.1, 25.0, 36.2\*, 39.7\*, 38.4\*和37.0%\*, 比对照组24.7%, \*  $P < 0.05$ )。提高受精液中的肝素浓度(从5到50 mg/L)能提高来自不同公牛精液的体外受精效果(以分裂率和囊胚发育率评定), 但不能消除公牛精液间体外受精效果的原有差异。在受精液中添加100  $\mu\text{g/L}$ 的血小板激活因子(PAF)明显提高卵母细胞的囊胚发育率(41.7%, 比34.4%,  $P < 0.05$ ), 但对卵母细胞的分裂率及囊胚孵化率无明显影响。当卵母细胞受精在含10  $\mu\text{g/L}$  PAF的受精液中时, 可获得较高的囊胚孵化率(95.6%)。表明适当提高受精液中的肝素浓度或添加适当浓度的PAF能提高牛卵母细胞体外受精后的胚胎发育能力。肝素和PAF的这一效应可能是通过促进精子的获能和活力而起作用的, 与公牛的个体无关。

**关键词** 肝素 血小板激活因子 公牛 卵母细胞 体外受精

**Abstract** Effects of heparin and platelet activating factor (PAF) on the in vitro fertilization of bovine oocytes (IVF) were examined. Addition of heparin to the fertilization medium at all the concentrations tested (2, 6, 18, 54, 162, 486 mg/L) resulted in a significant increase in the cleavage rate of oocytes (83.6, 84.9, 85.7, 89.2, 84.5 and 90.2% resp. vs 73.6%,  $P < 0.05$ ) and the proportion of zygotes beyond the 2-cell stage (85.7, 85.0, 89.9, 87.9, 87.4 and 85.5% vs 57.6%,  $P < 0.01$ ). However, the frequency of oocytes developing to the blastocyst stage did not increase until the concentration of heparin equalled or exceeded 18 mg/L (21.1, 25.0, 36.2\*, 39.7\*, 38.4\* and 37.0%\* resp. vs 24.7%, \*  $P < 0.05$ ). Increasing heparin concentration from 5 mg/L to 50 mg/L resulted in a significant increase in the cleavage rate and blastocyst development of oocytes fertilized with sperm from all of the three bulls, but could not delete the variation among bulls in their contribution to IVF. The addition of 5 mg/L PAF to the fertilization medium resulted in a significant increase in the frequency of oocytes developing to the blastocyst stage (41.7% vs 34.4%,  $P < 0.05$ ), but not in the cleavage rate of oocytes and the proportion of blastocysts hatched. A high percentage of blastocysts hatched was achieved when IVF took place in the presence of 10  $\mu\text{g/L}$  PAF. Appropriate elevation of heparin concentrations and addition of PAF to the fertilization medium can improve the embryonic development of bovine oocytes after IVF. This action of heparin and PAF may be mediated by facilitating the capacitation and motility of sperm and is independent of bulls.

**Key words** heparin platelet activating factor (PAF), bulls, oocytes, in vitro fertilization (IVF)

1996-04-08收稿。

自1988年卢克焕首次报道了世界首例完全体外化试管牛犊后<sup>[1]</sup>,各国学者已致力于如何通过体外受精技术生产大量的牛胚胎。研究不同公牛个体的体外受精效果试验表明:不仅公牛间的分裂率有明显差异,而且受精卵的胚胎发育能力差异更为明显<sup>[2]</sup>。说明受精质量对牛卵母细胞的随后胚胎发育能力有明显影响,提高受精质量是提高胚胎产量和质量的途径之一。

精子的获能和激活是影响牛卵母细胞体外受精成功与否的关键因素。肝素是目前牛体外受精最常用的获能剂。虽然已有关于肝素浓度对牛卵母细胞体外受精影响的报道<sup>[3,4]</sup>,但这些报道的试验浓度均在2 mg/L以下,且没有系统测定卵母细胞受精后的胚胎发育能力。因此,很有必要在更大的浓度范围内试验肝素对牛卵母细胞体外受精及其随后胚胎发育的影响。血小板激活因子(PAF)是近年来发现的另一种与精子的活力、顶体反应和受精有关的因子<sup>[5,6]</sup>,但其对牛卵母细胞体外受精质量的影响亦有待进一步研究。本研究将通过探讨受精液中不同浓度的肝素或PAF对牛卵母细胞的受精分裂率和随后胚胎发育的影响,以及它们与公牛个体的互作关系,从中找出适宜的肝素和PAF浓度,以提高牛卵母细胞的体外受精质量和胚胎的最终产量和质量。

## 1 试验材料及方法

### 1.1 试剂及培养液配制

本研究所用试剂,除TCM-199购自Gibco公司外,其余均购自Sigma化学公司。卵洗1液(W1)为TCM-199加5%发情牛血清(OCS),成熟及胚胎培养液(CM)为TCM-199加10%OCS。卵洗2液(W2),获能液及受精液均为改进的台罗氏液。除获能液外,所有培养液均添加 $10^5$  iu/L青霉素及100 mg/L链霉素。培养液的消毒用膜孔为0.22  $\mu$ m的微孔滤膜滤过进行。PAF先用氯仿助溶,然后再溶于受精液中,并使氯仿的最终浓度低于0.1%。肝素直接溶于受精液中。

### 1.2 材料来源及处理

所用卵巢在屠宰场收集。收集后置于含有35℃~37℃PBS的保温瓶内在3 h内送回实验室。卵母细胞回收通过10 mL的注射器进行,一般回收自2 mm~5 mm的有腔卵泡。只有那些具有完整卵丘细胞层及均匀细胞质的卵母细胞用作体外成熟培养。

颗粒细胞回收自2 mm~5 mm有的腔卵泡。回收的颗粒细胞先用W1清洗2次(300 g),然后悬浮在

CM中用于卵母细胞的成熟培养或供制作颗粒细胞的单层细胞用作胚胎的复合培养。

### 1.3 卵母细胞的体外成熟及体外受精

回收自2 mm~5 mm卵泡的牛卵母细胞经清洗2次后,置于含有2 mL CM及 $5 \times 10^9$ 个/L颗粒细胞的塑料平皿中,在5%CO<sub>2</sub>及温度为39℃的培养箱中成熟培养22 h~24 h。卵母细胞成熟后,先用W2清洗2次,并用吸管反复抽打去掉多余的卵母细胞,然后置于42  $\mu$ L含有不同浓度肝素或PAF的受精液微滴中,添加6  $\mu$ L经悬浮分离的活动精子,使受精滴中的最终精子浓度为 $1.5 \times 10^9$ 个/L。含有精子及卵母细胞的受精滴在39℃、5%CO<sub>2</sub>的培养箱中孵育44 h~46 h。受精的结果以分裂到2~8细胞阶段及经体外培养发育到囊胚阶段的卵母细胞比例来评定。

用于体外受精的精液系冷冻精液。精液解冻后,置于含有1 mL获能液的试管中悬浮30 min~60 min。然后吸取上层的精子,并离心清洗2次(300 g)供体外受精用。

### 1.4 卵母细胞早期胚胎发育潜力的评定

卵母细胞授精后44 h~46 h检查分裂率,并移至含有颗粒细胞单层细胞的微滴(90  $\mu$ L)中复合培养5 d~7 d,评定其早期胚胎发育能力。颗粒细胞的单层细胞在移入胚胎2 d前制备。移入时,换入新鲜培养液。移入后,每2 d换液1次。培养5 d后,检查记录发育到囊胚阶段的胚胎数。

### 1.5 试验设计

#### 1.5.1 试验一

本试验的目的是探讨受精液中不同浓度的肝素对牛卵母细胞受精分裂率及其随后胚胎发育的影响。根据肝素在受精液中的浓度(0, 2, 6, 18, 54, 162和486 mg/L),试验分为7组。每批经体外成熟的卵母细胞随机分配到各处理组进行体外受精试验,并按照前述方法进行胚胎发育能力评定。

#### 1.5.2 试验二

本试验旨在确定受精液中的肝素浓度(5 mg/L和50 mg/L)与公牛个体(01, 02和03)之间在体外受精过程中的互作效应。试验按照2×3因子试验设计分为6个处理组。每批体外成熟的牛卵母细胞随机分配到各处理组进行体外受精,并按照前述方法进行胚胎发育能力评定。各处理组的体外受精效果以授精后44~46 h的卵母细胞分裂率和体外培养7 d发育到囊胚阶段的卵母细胞比例来衡量。

#### 1.5.3 试验三

本试验的目的是研究PAF对牛卵母细胞体外受精的影响。试验根据PAF在受精液中的浓度

(0, 10, 100和1000  $\mu\text{g/L}$ ) 分为4组, 每组的受精液均含有30 mg/L 的肝素. 各处理组的体外受精效果以卵母细胞受精后的分裂率、囊胚发育率和囊胚孵化率来评定.

### 1.6 统计分析

所得数据均用卡方分析或方差分析确定差异的显著性. 进行方差分析时, 百分数数据先进行反正弦转换.

## 2 结果

### 2.1 肝素浓度对牛卵母细胞体外受精的影响

如表1所示: 在受精液中添加各种不同浓度的肝素, 均明显提高牛卵母细胞的分裂率和卵裂指数 ( $P < 0.01$ ), 并当肝素浓度为54 mg/L 时获得较高的分裂率. 然而, 对照组的卵母细胞囊胚发育率与低肝素浓度组 (2和6 mg/L) 无明显差异 ( $P > 0.05$ ), 只有当肝素浓度等于或高于18 mg/L 时, 卵母细胞的囊胚发育率才明显升高, 并在54 mg/L 时达到最高, 而后稍有下降. 各处理组之间的囊胚发育率无明显差异.

表1 体外受精在含有不同浓度肝素受精液中的卵母细胞分裂率及囊胚发育率

Table 1 Cleavage and blastocyst development of oocytes fertilized in fertilization media containing different concentration of heparin

肝素浓度 Heparin (mg/L)	卵裂率 Cleavage rate(%)	卵裂指数* Cleavage index(%)	囊胚发育率 Blastula developed(%)	囊胚孵化率 Blastula hatched(%)
0	73.6(334/454) <sup>c</sup>	57.6(133/231) <sup>b</sup>	27.4(112/454) <sup>b</sup>	76.8(53/69)
2	83.6(305/365) <sup>b</sup>	85.7(144/168) <sup>a</sup>	21.1(77/365) <sup>b</sup>	72.2(26/36)
6	84.9(394/464) <sup>b</sup>	85.0(226/266) <sup>a</sup>	25.0(116/464) <sup>b</sup>	82.5(52/63)
18	85.7(412/481) <sup>ab</sup>	89.8(237/264) <sup>a</sup>	36.2(174/481) <sup>a</sup>	75.0(75/100)
54	89.2(438/491) <sup>a</sup>	87.9(255/290) <sup>a</sup>	39.7(195/491) <sup>a</sup>	86.8(92/106)
162	84.2(365/432) <sup>b</sup>	87.4(229/262) <sup>a</sup>	38.4(166/432) <sup>a</sup>	80.0(76/95)
486	90.2(83/92) <sup>ab</sup>	85.5(71/83) <sup>a</sup>	37.0(34/92) <sup>a</sup>	76.2(26/34)

\* 受精后44 h~46 h 大于2-细胞的卵裂数占卵裂总数的百分率 Percentage of cleaved oocytes beyond 2-cell stage at 44 h~46 h after IVF. abc 列内具不同上标的值差异显著 ( $P < 0.05$ ) abc Within a column values with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).

### 2.2 公牛个体及肝素浓度对牛卵母细胞体外受精的影响

如表2所示, 当受精液中的肝素浓度由5 mg/L

升高到50 mg/L 时, 卵母细胞受精后的分裂率 ( $F = 53.3, P < 0.01$ ) 及囊胚发育率 ( $F = 90.7, P < 0.01$ ) 均明显提高. 此外, 公牛个体间的卵母细胞分裂率 ( $F = 16.7, P < 0.01$ ) 及囊胚发育率 ( $F = 13.28, P < 0.01$ ) 亦存在着显著差异. 然而, 肝素浓度与公牛个体之间对卵母细胞的分裂率 ( $F = 0.67, P > 0.05$ ) 和囊胚发育率 ( $F = 0.38, P > 0.05$ ) 的互作效应则均不显著. 由此表明, 肝素浓度对牛卵母细胞体外受精的影响与公牛个体无关, 提高肝素浓度亦不能消除公牛个体间的体外受精效果差异.

表2 公牛个体及肝素浓度对牛卵母细胞体外受精后的分裂率及其随后胚胎发育的影响

Table 2 Effects of bulls and heparin concentration on the cleavage of bovine oocytes and their subsequent embryonic development

肝素浓度 Heparin (mg/L)	公牛 个体 Bulls	授精卵数 Oocytes insem.	分裂率 Cleavage (%)	囊胚发育率 Blastula developed (%)
5	01	388	78.9 $\pm$ 3.62	31.7 $\pm$ 6.31
	02	425	73.9 $\pm$ 6.62	24.6 $\pm$ 5.02
	03	413	83.7 $\pm$ 2.30	32.4 $\pm$ 4.83
	小计 Total	1226	78.8 <sup>B</sup>	29.6 <sup>B</sup>
50	01	406	87.5 $\pm$ 2.49	47.3 $\pm$ 5.63
	02	391	83.4 $\pm$ 3.11	37.8 $\pm$ 3.52
	03	375	88.7 $\pm$ 2.89	45.0 $\pm$ 4.37
	小计 Total	1172	86.5 <sup>A</sup>	43.4 <sup>A</sup>

表中数据来自八次重复试验, 所给定的百分数值为平均数 $\pm$ 标准差 Data shown in the table are from eight replicates and the values given are mean $\pm$ s.d. AB; 列内具不同上标的值差异极显著 ( $P < 0.01$ ) Within columns, values with different superscripts are significantly different ( $P < 0.01$ ).

### 2.3 PAF 对牛卵母细胞体外受精的影响

如表3所示, 在受精液中添加100  $\mu\text{g/L}$  的 PAF, 显著提高卵母细胞受精后的囊胚发育率, 虽然该处理对卵母细胞的分裂率及囊胚孵化率无明显影响. 当 PAF 在受精液中的添加浓度为10  $\mu\text{g/L}$  时, 显著提高囊胚的孵化率. 由此表明, 在受精液中添加 PAF 不仅能提高牛卵母细胞受精后的胚胎发育能力, 而且还能提高其形成胚胎的质量.

## 3 讨论

本研究结果表明, 适当提高受精液中的肝素浓度

或添加一定浓度的 PAF,能提高牛卵母细胞体外受精后的胚胎发育能力。

表3 受精液中的 PAF 对牛卵母细胞的分裂率及其随后胚胎发育的影响

Table 3 Effects of PAF in fertilization medium on the cleavage of bovine oocytes and their subsequent embryonic development

PAF 浓度 PAF concentration ( $\mu\text{g/L}$ )	分裂率 Cleavage (%)	囊胚发育率 Blatula developed (%)	囊胚孵化率 Blatula hatched (%)
0	85.8(314/366) <sup>ab</sup>	34.4(126/366) <sup>b</sup>	87.6(85/97) <sup>b</sup>
10	85.4(309/362) <sup>ab</sup>	41.2(149/362) <sup>ab</sup>	95.6(130/136) <sup>a</sup>
100	86.7(314/362) <sup>ab</sup>	41.7(151/362) <sup>a</sup>	93.9(123/131) <sup>ab</sup>
1000	86.7(288/332) <sup>ab</sup>	39.2(130/332) <sup>ab</sup>	86.9(113/130) <sup>b</sup>

ab: 列内具不同上标的值差异显著 ( $P < 0.05$ ) Within columns, values with different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).

在过去的牛体外受精程序中,一般需对精子授精前进行获能处理,即通常将精子与肝素孵育 15 min 到 4 h<sup>[7,8]</sup>。作者在本研究的预备试验中发现,精子的体外受精效果与其授精前的肝素获能处理无关,而主要取决于受精液中的肝素浓度。因经肝素获能处理的精子,再经离心洗涤去掉肝素,其体外受精效果与不经肝素获能处理的精子一样,均能得到近 70% 的受精分裂率。由此说明,肝素仅在卵母细胞及其卵丘细胞存在的条件下,对精子的获能才显示出一定的促进作用,真正对精子获能起关键作用的是卵母细胞及卵丘细胞本身。因此,本研究为简化体外受精程序,去掉了精子授精前的获能处理,着重试验受精液中的肝素浓度对牛卵母细胞体外受精质量的影响。

作者以前的研究表明,用来自不同公牛精液受精的卵母细胞,其胚胎发育能力存在着明显差异<sup>[2]</sup>。因此,牛卵母细胞受精后的胚胎发育命运,至少部分是在受精过程中确定下来的。已有报道表明,改变肝素的浓度能提高或降低精子的获能<sup>[9]</sup>和受精效率<sup>[10]</sup>。如果由公牛个体引起的胚胎发育能力的差异是因其精子获能和穿透卵子所需时间的差异所致,那么提高受精液中的肝素浓度将有可能消除公牛个体之间的体外受精效果差异。然而,本研究的结果则未能证实这一假设,因卵母细胞的分裂率及囊胚发育率虽能随肝素浓度的升高而提高,但公牛个体之间的差异则仍然存在。也许精子在受精过程中的潜在行为主要取决于其个体的遗传特性,如染色体的畸形率,并非任何人为因素所能补偿。Hillery 等(1990)的研究表明,公牛自然生育能力的差异与其体外受精效果的差异密

切有关<sup>[11]</sup>,进一步证实了作者的这一推测。因此,提高受精液中的肝素浓度能改善精子的体外受精效果,但不能消除公牛个体之间的差异。

虽然数年前就已知道,提高肝素浓度以促进精子获能及受精的效率<sup>[12]</sup>,但由于害怕由此导致的多精子受精,很少有人用高浓度的肝素进行体外受精尝试。1988年,Lu 和 Grodon 的研究表明,卵母细胞的受精率随着肝素浓度(0, 0.2, 1.0, 2.0 mg/L)的升高而提高<sup>[3]</sup>,但他们没有试验更高浓度的肝素,也没有测定卵母细胞随后的胚胎发育能力。Guyader 等(1990)测定了受精液中的肝素浓度(0.05 mg/L~2.0 mg/L)对卵母细胞随后胚胎发育的影响,发现 1 mg/L 肝素的桑椹胚及囊胚的发育最高,达 25.1%<sup>[4]</sup>。然而在本研究中,虽然各种浓度肝素处理组的分裂率均明显高于对照组,但卵母细胞的囊胚发育率则仅当肝素浓度等于或高于 18 mg/L 时才显著提高。由此表明,低浓度的肝素能提高受精率,但不能提高受精质量,除非进一步提高肝素浓度。多精子受精的发生可能主要取决于卵母细胞成熟的质量,而与精子浓度和肝素浓度的关系不大,因本研究各浓度肝素处理组的分裂率均在 83% 以上。Parrish 等(1989)<sup>[14]</sup>根据 Lee 和 Ax (1984)的报道<sup>[13]</sup>,推测牛输卵管液的肝素样糖苷化合物的浓度为 780 mg/L。因此,本研究结果显示的适宜肝素剂量完全符合牛的正常生理参数。

为控制多精子受精的发生,一些研究者提出,调整受精滴中的精子和肝素浓度是获得理想受精结果的途径之一<sup>[7,15]</sup>。随后的研究表明,为保证体外受精的效果,不同的公牛需要不同的肝素浓度<sup>[16]</sup>。然而本研究的结果显示,肝素浓度对牛卵母细胞体外受精的影响与公牛个体无关。这可能是由于本研究所用的卵母细胞成熟质量较好,由高浓度肝素引起的多精子受精并不严重。因此,来自不同公牛的精液都对肝素表现出相同的剂量反应。

血小板激活因子是一种磷脂相联形成的醚,具有促进发炎和血管扩张的特性,与排卵时的卵泡破裂有关<sup>[17]</sup>。近来,已在鼠<sup>[19]</sup>和牛<sup>[18]</sup>等动物的精子中发现有 PAF 的存在。虽然,对 PAF 的确切功能尚不清楚,但已有研究表明,PAF 对多种动物的精子活力<sup>[5]</sup>,顶体反应<sup>[6,17]</sup>和体外受精<sup>[16,19]</sup>均有促进作用。本研究的结果显示,虽然 PAF 对牛卵母细胞的分裂率无明显影响,但能提高卵母细胞的囊胚发育率。由此表明,精子活力与卵母细胞的受精质量有关,PAF 能通过提高精子的活力进一步提高牛卵母细胞的体外受精质量。

## 参考文献

- 1 Lu K H, Gordon I, Chen H B et al. Birth of twins after transfer of cattle embryos produced by in vitro techniques. *Vet Record*, 1988, 122: 539~540.
- 2 Shi D S, Lu K H, Gordon I. Effects of bulls on fertilization of bovine oocytes and their subsequent development in vitro. *Theriogenology*, 1990, 33: 324.
- 3 Lu K H, Gordon I, 1988c. Effect of heparin on the capacitation of frozen-thawed bovine spermatozoa used in the in vitro fertilization of oocytes matured in vitro. *Proc 11th Int Congr Anim Reprod & A I (Dublin)*, 1988c, 3: 342 (3pp).
- 4 Guyader C, Marquant-Le Guienne B, Humblot P et al. Effect of heparin concentration on in vitro development of bovine eggs. *Proc 6th Conf European Embryo Transfer Assoc (Lyon)*, 1990. 150.
- 5 Ricker D D, Minhas B S, Kumar R et al. The effects of platelet activating factor on the motility of human spermatozoa. *Fert Steril*, 1989, 52: 655~658.
- 6 Parks J E, Hough S R. Effects of platelet activating factor on the motility and acrosome reaction of bovine spermatozoa. *Theriogenology*, 1990, 34: 903~912.
- 7 Parrish J J, Susko-Parrish J L, Winer M A et al. Capacitation of bovine sperm by heparin. *Biol Reprod*, 1988, 38: 1171~1180.
- 8 Lu K H, Gordon I, Gallagher M et al. Pregnancy established in cattle by transfer of embryos derived from in vitro fertilization of oocytes matured in vitro. *Vet Record*, 1987, 121: 259~260.
- 9 Parrish J J, Susko-Parrish J L, Critser E et al. Bovine in vitro fertilization. *Proc 11th Tech Conf AI and Reproduction*. 1986c. pp. 120.
- 10 Leibfried-Rutledge M L, Critser E S, Parrish J J et al. In vitro maturation and fertilization of bovine oocytes. *Theriogenology*, 1989, 31: 61~74.
- 11 Hillery F L, Parrish J J, First N L. Bull specific effect on fertilization and embryo development in vitro. *Theriogenology*, 1990, 33: 249.
- 12 First N L, Parrish J J, Sperm maturation and in vitro fertilization. *Proc 11th Int Congr Anim Reprod & A I (Dublin)*, 1988, 5: 161~168.
- 13 Lee C N, Ax R L. Concentrations and composition of glycosaminoglycans in the female bovine reproductive tract *J Dairy Sci*, 1984, 67: 2006~2009.
- 14 Parrish J J, Susko-Parrish J L, Handrow R R. Capacitation of bovine spermatozoa by oviduct fluid. *Biol Reprod*, 1989a, 40: 1020~1025.
- 15 First N L, Parrish J J. In vitro fertilization of ruminants. *J. Reprod. Fert, Suppl*, 1987, 34: 151~165.
- 16 Lancaster R, Catt J, Rhodes S et al. Bull and breed specific effects of heparin-capacitated bovine sperm on the in vitro fertilization of in vitro matured follicular oocytes. *Proc 6th Conf European Embryo Transfer Assoc (Lyon)*, 1990. 166.
- 17 D 'Cruz O J, Hass G G Jr. Platelet-activating factor induces acrosome reactions in human sperm. In: *proceeding of the Serono Symposium on Fertilization in Mammals*, Boston, M A, 1989. pp. 53 (abstract I -6)..
- 18 Parks J E, Hough S, Elrod C E. Platelet activating factor in the phospholipids of bovine spermatozoa. *Biol Reprod*, 1990b. 43: 806~811.
- 19 Kuzan F B, Deissler F T, Henderson W R Jr. Role of platelet activating factor (PAF) in fertilization. *Prostaglandins*, 1990, 39: 61~74.

(责任编辑: 邓大玉 蒋汉明)