

太平洋牡蛎卵母细胞发育及卵黄发生的超微结构

任素莲 王德秀 王如才

(青岛海洋大学水产学院养殖系, 青岛 266003)

摘要 利用透射电镜观察了太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)卵母细胞的发育及卵黄发生。卵母细胞的发育可分为卵黄合成前卵母细胞与卵黄合成期卵母细胞2个阶段。卵黄颗粒来源于线粒体、内质网、高尔基体、吞饮小泡等多种细胞器。

关键词 太平洋牡蛎, 卵母细胞, 卵黄, 超微结构

卵母细胞的发育过程历来为人们所关注, 而卵黄作为胚胎发育过程中重要的营养物质, 其形成与来源同样受到重视。目前, 随着贝类育苗工作更加广泛的开展, 已有许多学者对僧帽牡蛎(*Ostrea cucullata*)^[1]、栉江珧(*Atrinna pectinata*)^[2]、栉孔扇贝(*Chlamys ferrerii*)^[3]、青蛤(*Cyclina sinensis*)^[4]、缢蛏(*Sinonovacula constricta*)^[5]、美洲牡蛎(*Crassostrea virginia*)^[6]等双壳贝类卵母细胞的发生过程及卵黄形成进行过研究, 但未见对太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)这方面的报道。为此, 本文对太平洋牡蛎卵母细胞的发育过程及卵黄形成的超微结构进行了详细的观察, 以积累更多的资料, 为苗种生产服务。

1 材料与方法

实验于1998年3~5月进行。分别在3、4、5月从山东荣成俚岛海水育苗厂取得亲贝, 解剖获取不同发育期的卵巢, 用2.5%的戊二醛固定后, 1%锇酸后固定, 乙醇梯度脱水, Epon 812 环氧树脂包埋, LKB超薄切片机切片, 醋酸铀柠檬酸铅双重染色, 日立H-7000型透射电镜下观察。

2 实验结果

收稿日期: 1998-11-16

* 国家科委“攀登”计划B项目(PD-B6-3-1)及国家高新技术研究发展计划项目(863-819-01-01)

2.1 卵母细胞的发育

太平洋牡蛎卵母细胞的发育可划分卵黄合成前期卵母细胞和卵黄合成期卵母细胞2个阶段。

2.1.1 卵黄合成前卵母细胞 卵黄合成前卵母细胞又称小生长期卵母细胞。此时期细胞的形态为卵圆形, 以柄固着于泡囊壁上, 长径10~13 μm , 短径7~8 μm , 细胞质大量增加, 线粒体、内质网及高尔基体等各种细胞器迅速增生, 细胞体积增大。胞核圆形或卵圆形, 大小3~3.5 μm , 染色质聚集成较大的块状颗粒分散于核内, 有时可见1~2个核仁(图版I-1)。胞质内含有大量的线粒体, 形态差别较大, 有圆形、卵圆形、长棒状及肾形等多种形态, 线粒体嵴较为明显, 核膜附近有较多的线粒体分布(图版I-2)。在细胞核上端外侧, 可见1个典型的杯状高尔基复合体, 其周围及胞质内可见大量的高尔基液泡(图版I-3)。粗面内质网发达, 有许多小片段、内质网潴泡(图版I-4)。溶酶体为致密的圆球形, 由单层膜包裹, 分散分布于胞质内(图版I-1)。

2.1.2 卵黄合成期卵母细胞 这是处于大生长期的卵母细胞, 是卵黄大量积累的阶段。在卵黄合成早期, 可见由许多线粒体与高尔基液泡、内质网片段组成的线粒体云(图版I-5)。内质网数量继续增加, 并出现了许多由粗面内质网盘绕形成的球状环形片层结构(图版I-6), 环形片层的层数不一, 由1层到多层, 内部有刚形成的卵黄颗粒物质, 电子密度疏松。核糖体数量剧增, 在线粒体、内质网、高尔

基泡附近都有大量的核糖体堆积(图版 I - 7), 细胞质内还见到许多致密颗粒与线粒体、内质网、高尔基液泡堆积在一起的现象(图版 I - 8)。这些颗粒直径约 $0.13\ \mu\text{m}$, 为生殖质。在卵黄合成旺盛期, 细胞的外表面有微绒毛出现, 顶端有许多致密的细小颗粒附着(图版 I - 9)。随着卵母细胞的发育, 微绒毛基部稍有膨大, 胞质内出现大量的吞饮小泡, 有的正在形成卵黄颗粒(图版 I - 10)。微绒毛与吞饮小泡的出现, 扩大了卵母细胞本身与外界物质的物质交换。在卵黄合成最活跃时期, 细胞核的形态与结构也发生着巨大的变化: 核膜变得凹凸不平, 并向细胞质和核内伸出了许多突起, 有些突起脱离细胞核, 在胞质内形成独立的泡状结构, 称为核膜泡(图版 I - 11, 12), 核膜泡具有双层膜结构。核内可见到微管状结构, 管上附有致密的颗粒(图版 I - 1), 为核内环行片层。在卵黄合成后期, 细胞因积累了大量的卵黄而体积变得很大。胞质内仍含有大量的线粒体、核糖体, 但高尔基液泡、内质网等已经很少, 环形片层已经消失。核膜变得很平滑, 核内染色质较少, 有 1 个大的核仁位于中间(图版 I - 14)。

2.2 卵黄的来源与形成

电镜观察发现, 太平洋牡蛎卵黄颗粒由线粒体、内质网、高尔基液泡、吞饮小泡等形成。合成卵黄物质的来源有内源性 & 外源性两种来源。

2.2.1 线粒体 在卵黄合成前期大量扩增的线粒体, 一部分供应以后的胚胎发育, 另一部分则形成了卵黄颗粒。线粒体合成卵黄时, 内部首先空泡化, 线粒体嵴大部分退化、消失, 然后, 内部出现卵黄合成物质的沉积而演化成电子密度较高的球状卵黄颗粒(图版 I - 15), 卵黄外膜通常呈波浪状。

2.2.2 高尔基液泡 高尔基液泡外首先出现核糖体的堆集, 然后液泡内出现疏松颗粒物质, 最后形成电子密度较高的卵黄颗粒(图版 I - 14)。

2.2.3 内质网 内质网(主要是粗面内质网)形成卵黄颗粒主要方式: 以环形片层的形式包绕在高尔基液泡的周围形成卵黄(图版 I - 6); 内质网形成的小泡直接形成卵黄颗粒(图版 I - 7)。

2.2.4 吞饮小泡 在卵黄合成旺盛期, 胞质内出现了大量的吞饮小泡, 其外面有核糖体附着, 内部出现物质沉淀并逐渐发育成卵黄(图版 I - 10)。

2.2.5 核膜泡 在卵黄合成旺盛期, 核膜外突形成大量的核膜泡, 脱离核膜后不久与核糖体接触形成粗面内质网, 从而以环形片层的形式形成卵黄(图版

I - 12)。

3 讨论

3.1 卵黄颗粒的形成

双壳贝类卵子内的卵黄颗粒由线粒体、内质网、高尔基液泡、吞饮小泡等形成已是大家所公认的事实^[1-5], 在太平洋牡蛎卵母细胞的发育过程中同样也发现了这几种来源的卵黄颗粒。在卵黄合成的早期, 卵黄通常由线粒体、高尔基液泡及内质网形成, 形成卵黄的物质, 主要来源于卵母细胞本身的合成; 在卵黄合成旺盛期, 伴随着细胞表面微绒毛的形成, 大量的微吞饮小泡也参与了卵黄的形成, 并通过微绒毛十分活跃的胞饮作用, 将外源物质源源不断的输送到细胞内部, 以保证卵母细胞本身的需要及卵黄物质的合成。我们认为核膜泡也间接地参加了卵黄的合成。核膜泡是在卵黄合成旺盛期由核膜外突在胞质内形成的结构, 这种结构在其它双壳贝类的卵母细胞中也存在^[1, 4]。林加涵等认为核膜泡是细胞核与细胞质之间的联系结构, 可能是将从染色体来的物质运输到细胞质的一种装置^[1]。而我们观察, 核膜泡一旦形成, 便迅速与核糖体结合, 后经扩增形成部分环形片层, 参加卵黄的形成。此观点与方永强^[2]相似。

3.2 卵黄合成旺盛期

在该期细胞质与细胞核关系密切, 物质交换频繁^[4]。伴随着卵母细胞的生长与卵黄物质的合成, 核仁体积变大, 代谢作用明显, 胞质内核糖体数量也剧增。实验发现, 卵黄形成时, 有核糖体堆积现象, 这种堆积在高尔基液泡、内质网液泡以及附着在吞饮小泡外的核糖体合成了大量的核糖体蛋白, 形成了卵黄颗粒。

3.3 卵黄合成早期

在卵黄合成早期, 线粒体聚集在生发泡附近, 称为线粒体云, 也称卵黄核或巴尔比安尼体^[7, 8]。Balinsky^[9]在幼蛙卵母细胞质边缘、刘德模等^[3]在栉孔扇贝卵母细胞中都观察到线粒体云。太平洋牡蛎卵母细胞在卵黄合成早期, 也存在这样的结构, 除包含大量的长形线粒体、高尔基液泡之外, 还含有许多内质网液泡。在卵黄合成旺盛期, 此结构消失。线粒体云曾被认为与卵黄合成有关^[7, 9, 10]。但近年来, 这种想法已被放弃^[11]。即线粒体聚集与一种颗粒状电子密度物质相联系。我们则认为, 线粒体云的出现与消失, 仍然与卵黄的合成密切相关。

3.4 生殖质

在许多无脊椎动物,如水母、箭虫、轮虫、甲壳动物、昆虫,以及脊椎动物如鱼类、两栖类等的卵细胞中都含有生殖质^[7,12]。不同动物,生殖质出现的时间不一。如林蛙或蟾蜍中的生殖质是在受精之后才在植物极附近找到;而爪蟾在卵母细胞时期已找到一些生殖质,位于卵母细胞的皮层及皮下层的细胞质内,是以核糖体集团形式出现的一些电子致密颗粒。在卵裂时,凡具有这种生殖质的细胞将发育为生殖细胞。太平洋牡蛎卵黄合成初期的卵母细胞中,皮下层也有许多致密小颗粒,形态、大小与前人报道相似。因此,我们认为,在太平洋牡蛎卵母细胞早期,生殖质就已经存在。

3.5 核内环状片层

在卵黄合成旺盛期的卵母细胞核内,也有核内环状片层存在,只是数量很少。此结构在僧帽牡蛎中曾有过报道^[1],即核内微管可能为卵母细胞合成卵黄起着输送物质的作用。我们也认为,核内环状片层对核内外物质交换与运输起重要作用。

参 考 文 献

1 林加涵,等.僧帽牡蛎卵母细胞卵黄发生的超微结构研究.厦门大学

- 学学报(自然科学版),1983,22(3):355~363
- 2 方永强,等.栉江珧卵母细胞发育成熟过程中的超微结构研究.海洋学报,1987,9(5):612~616
- 3 刘德模,等.栉孔扇贝卵母细胞卵黄发生的研究.厦门大学学报(自然科学版),1996,35(3):413~416
- 4 曾志南,等.青蛤卵母细胞发育过程和卵黄发生的超微结构研究.海洋学报,1991,13(5):679~686
- 5 上官步敏,等.缢蛏卵母细胞卵黄发生过程的超微结构研究.海洋与湖沼,1995,26(1):48~51
- 6 Paul S. GALTISOFT, The American Oyster. 北京:高等教育出版社,1969
- 7 丁汉波,等.发育生物学.北京:高等教育出版社,1987
- 8 Billett F S, E Adam. The structure of the mitochondrial cloud of *Xenopus laevis*. J Embry Exp Morph, 1975, 33:697~710
- 9 Balinsky B I, R J Devis. Origin and differentiation of cytoplasmic structures in the oocytes of *Xenopus laevis*. Acta Embry Mooroph Exp, 1963, 6:5~108
- 10 楼允东主编.组织胚胎学.北京:中国农业出版社,1996
- 11 韩贻仁主编.分子细胞生物学.北京:高等教育出版社,1988
- 12 曲淑惠,等.动物胚胎学.北京:高等教育出版社,1989

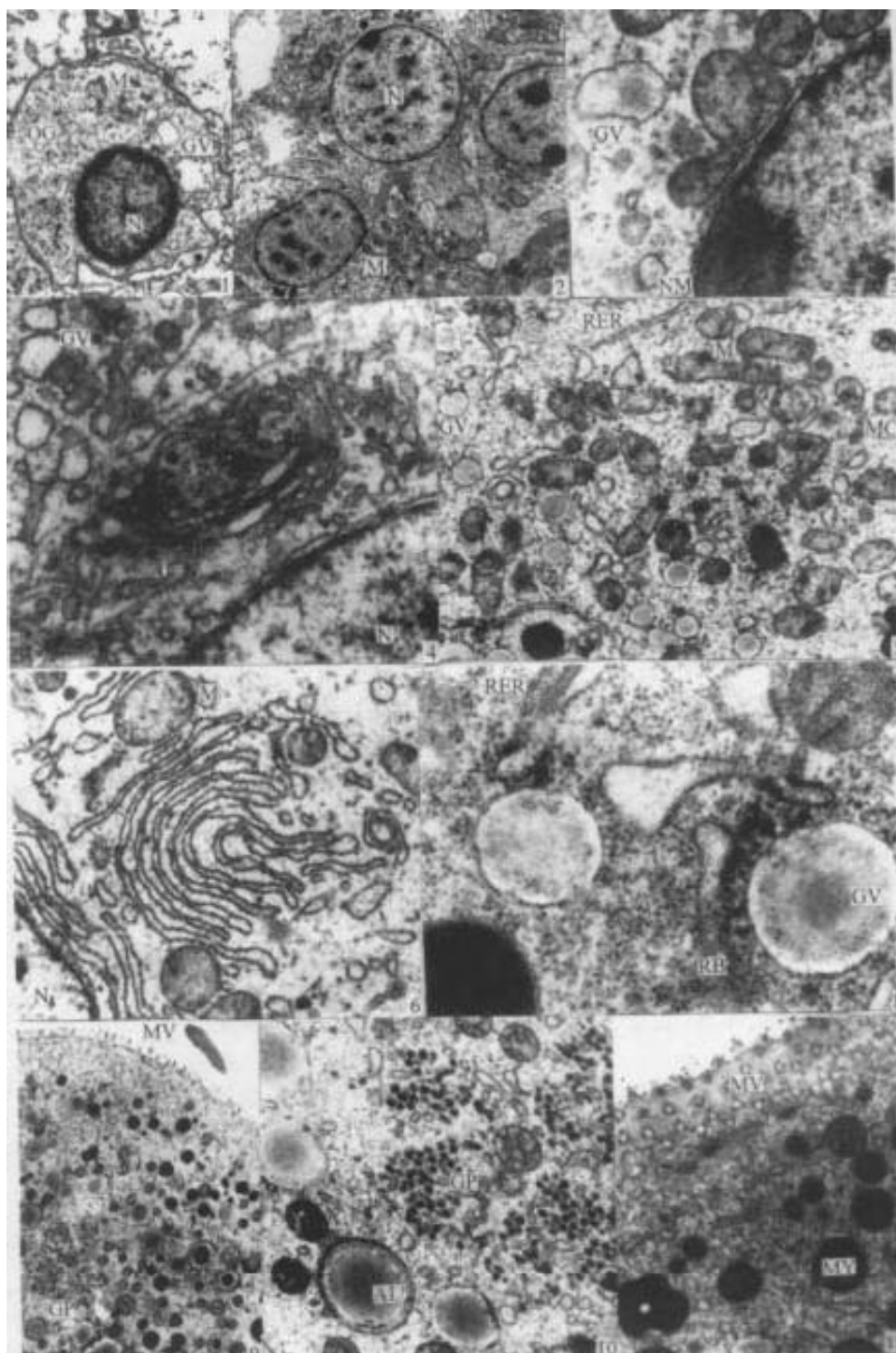
Ultrastructural studies on development of oocytes and vitellogenesis of *Crassostrea gigas*

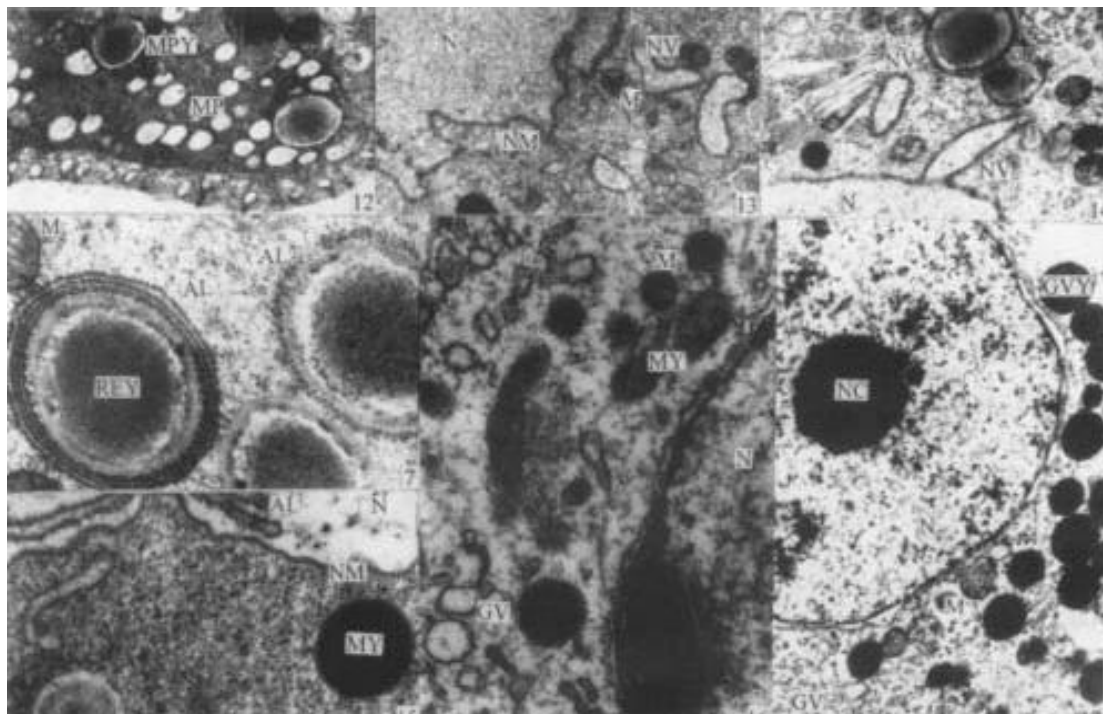
Ren Sulian Wang Dexiu Wang Rucai

(Aquaculture Department, Fisheries College, Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003)

Abstract The ultrastructure of oocytes and vitellogenesis of *Crassostrea gigas* were studied with transmission electron microscope. The development of oocyte can be divided into 2 stages, which are previtellogenic oocyte and vitellogenic oocyte. The yolk originated from many organelles, including mitochondria, golgi vesicle, rough endoplasmic reticulum, micropinocytic vesicles and so on.

Key words *Crassostrea gigas*, oocyte, yolk, ultrastructure





图版 I Plate I

- 1 卵黄合成前的卵母细胞, 示基本结构, $\times 7\,500$ 。Ultrastructure of previtellogenic oocyte.
- 2 卵黄合成前卵母细胞的线粒体, $\times 22\,500$ 。Mitochondria of previtellogenic oocyte.
- 3 卵黄合成前卵母细胞的高尔基体, $\times 30\,000$ 。Golgi body of previtellogenic oocyte.
- 4 卵黄合成前卵母细胞的内质网, $\times 15\,000$ 。Rough endoplasmic reticulum of previtellogenic oocyte.
- 5 卵黄合成前卵母细胞内的线粒体云, $\times 10\,500$ 。The mitochondrial cloud at the beginning of vitellogenesis.
- 6 环形片层正在形成卵黄颗粒, $\times 30\,000$ 。Yolk granules is forming from the annulate lamellae.
- 7 卵黄合成时正在聚积的核糖体颗粒, $\times 45\,000$ 。The ribosomes are accumulating around Golgi vesicles at the beginning of vitellogenesis.
- 8 卵黄合成期出现的生殖质颗粒, $\times 15\,000$ 。Germ plasma granules in vitellogenic oocyte.
- 9 细胞质内出现的微吞饮小泡, $\times 12\,000$ 。Micropinocytes vesicles of the vitellogenic oocyte.
- 10 卵黄合成旺盛期微绒毛顶端的致密颗粒与胞饮作用, $\times 15\,000$ 。Densed granule and pinocytosis at the top of microvillie.
- 11 卵黄合成旺盛期的核膜与核膜泡, $\times 10\,500$ 。Nuclears membrane and nuclears vesicles in vitellogenic oocytes.
- 12 正在形成的核膜泡, $\times 12\,000$ 。Nuclears vesicle is forming.
- 13 核内环行片层, $\times 25\,500$ 。Annulate lamellae in the nucleus.
- 14 卵黄合成后期的卵母细胞, 示卵黄颗粒生发泡及细胞器, $\times 10\,500$ 。The potavitellogenic oocyte showing yolk granules, germinal vesicle and organelles.
- 15 卵黄合成期卵母细胞示线粒体正在合成卵黄, $\times 30\,000$ 。Yolk is forming from the mitochondria of vitellogenic oocyte.

OC - 卵母细胞; GB - 高尔基体; GV - 高尔基泡; M - 线粒体; RER - 粗面内质网; MP - 微吞饮小泡; MV - 微绒毛; N - 细胞核; NM - 核膜; RB - 核糖体; MC - 线粒体云; GP - 生殖质; MY - 线粒体形成卵黄; GVV - 高尔基泡形成卵黄; AL - 环行片层; NV - 核膜泡; REY - 内质网形成卵黄; MPY - 微吞饮小泡形成卵黄; NC - 核仁; LY - 溶酶体; DG - 致密颗粒