

文蛤卵母细胞卵黄发生的超微结构

应雪萍

(温州师范学院 生物与环境科学系, 浙江 温州 325027)

摘要:取不同发育阶段文蛤(*Meretrix meretrix* Linnaeus)活体解剖取出生殖腺,常规方法制成切片,以透射电镜(TEM)观察其卵母细胞的卵黄发生过程。结果表明,文蛤的卵母细胞卵黄发生期间,线粒体、内质网、高尔基复合体、溶酶体、微体等细胞器均参与了卵黄粒的形成。卵黄合成早期的卵母细胞质膜伸出大量的微绒毛,并出现卵黄膜,胞质中有大量膜性小泡,溶酶体、线粒体、高尔基复合体和粗面内质网发达,卵黄前体物质逐渐增多。在卵黄合成中期,胞质内线粒体和内质网活动活跃,卵母细胞大量合成和积累卵黄物质,细胞质膜外凸,与外界进行物质交换。卵黄合成后期,卵质内贮存了大量的卵黄粒,细胞器不发达。此外,还对卵母细胞发育过程卵黄颗粒的细胞内、外原料来源进行了讨论。

关键词:文蛤;卵黄发生;超微结构

中图分类号:Q954.43

文献标识码:A

文章编号:1005-8737(2002)02-0125-04

卵黄不仅是胚胎发育所需营养成分的主要来源,而且其中的酶在卵母细胞的代谢中起着重要的作用^[1]。不同动物卵黄形成的方式是有区别的。有关软体动物卵母细胞卵黄发生的超微结构研究,除应雪萍等^[2]、Kevin等^[3]分别对腹足纲的泥螺(*Bullacta exarata*)、*Bathynnerita naticoides*进行报道外,大多集中在双壳纲动物^[4~9],并认为软体动物卵黄发生与卵母细胞的一些细胞器有关。

文蛤(*Meretrix meretrix* Linnaeus)作为经济贝类,是我国沿海重要的增殖对象。有关文蛤年龄^[10]、滩涂养殖等^[11]方面的研究已有报道;应雪萍等^[12,13]也曾对文蛤消化系统及肝脏进行了组织学和超微结构的研究,但未见文蛤卵母细胞卵黄发生的报道。本文对文蛤卵母细胞卵黄发生过程进行详细的观察和研究,以期对文蛤的胚胎发育研究提供参考资料。

1 材料与方法

2000年5~10月、2001年2~4月,每月1次购文蛤于温州农贸市场。每次取不同发育阶段的雌体

10只,解剖活体,迅速取出生殖腺,切成1 mm³左右小块,分别用0.1 mol/L、pH 7.2磷酸缓冲液配制的2.5%戊二醛和1%锇酸双重固定,酒精系列脱水,618环氧树脂渗透并包埋,瑞典LKB-2088超薄切片机切片,醋酸铀和柠檬酸铅双重染色,日立H-600透射电镜观察和摄影。

2 结果与分析

2.1 卵母细胞的发育(图版见附页7、8)

根据卵母细胞的体积大小、营养物质(卵黄)积累的多少及细胞器的特点,将文蛤卵母细胞划分为卵黄合成早期、卵黄合成中期和卵黄合成后期。

2.1.1 卵黄合成早期 卵黄合成早期的卵母细胞也称为小生长期卵母细胞,质膜伸出大量的微绒毛,在平行于卵母细胞表面有卵黄膜出现(图版I-1, VM)。卵母细胞胞质中含有数量较多的线粒体和膜性小泡(图版I-1, M, MVB),溶酶体较丰富,粗面内质网发达(图版I-2, LY, RER),高尔基体(图版I-3, GC)由7~13层扁平囊组成,成熟面和扁平囊两端形成大量的囊泡(图版I-3, GV)。此期卵质中出现一些灰色的脂滴,卵黄粒较少(图版I-3, L)。

2.1.2 卵黄合成中期 卵黄合成中期是卵母细胞

收稿日期:2001-07-30.

作者简介:应雪萍(1966-),女,副教授,硕士,主要从事海洋无脊椎动物生殖与发育生物学研究.E-mail: xpying2000@163.net

大量合成和积累卵黄物质的时期。此期卵母细胞核具1个核仁,内容物丰富,部分卵黄颗粒已浓缩(图版I-4,Y)。粗面内质网发达,并盘绕成球状、椭球状(图版I-5,RER),或包绕着线粒体(图版I-6),或交联成网状(图版I-4,RER)。线粒体腔内电子密度增大,逐渐发育为卵黄粒(图版I-6,II-1,MY)。细胞质膜外凸,并具丰富的微绒毛,与外界进行物质交换(图版II-2,CM,MV)。这期最显著的特点是:细胞质中逐渐形成和积累大量卵黄粒,卵黄粒呈椭圆或圆形分布于细胞质中。

2.1.3 卵黄合成后期 卵质中内质网数量大大减少,只剩一些小片段。高尔基复合体仍在活动,但量较少(图版II-4,GC)。线粒体数量少,片状嵴发育差,基质电子密度也低(图版II-3,M)。大量的卵黄粒充满细胞质,细胞体积变得很大(图版II-4,Y)。

2.2 卵母细胞卵黄粒的发生

卵母细胞成熟过程中最重要的事件是卵黄粒的形成。电镜观察发现,文蛤卵母细胞卵黄发生主要是通过内质网、线粒体、高尔基复合体、溶酶体、多泡小体、微吞饮泡等途径演变而来的。

2.2.1 粗面内质网形成卵黄粒 在卵黄合成期间,文蛤卵母细胞内的部分粗面内质网盘绕成球状体,其中央出现卵黄物质(图版I-5,Y)。随着卵黄粒的增大,内质网片层逐渐减少,到卵黄合成后期,这种内质网便难以见到。此外,粗面内质网一端还膨大形成小囊泡,随后脱离并排放到细胞质中,成为球状或椭球状小泡,高电子密度物质在泡内沉积(图版I-5,RV),并逐渐扩大,最后充满整个膜囊,形成卵黄粒。

2.2.2 线粒体可直接形成卵黄粒 在卵母细胞卵黄发生过程中,分散于细胞质中的一部分线粒体膨胀、泡化,嵴大多溶解消失,只剩少量残余短嵴,而高电子密度的卵黄颗粒慢慢沉积于其中,且颗粒逐渐增加,范围不断扩大,最后充满线粒体,形成卵黄粒,这种卵黄粒外膜呈波浪状(图版II-1,“←”)。另一部分线粒体则被粗面内质网包绕在里面,而后线粒体嵴和膜溶化,高电子密度的物质进入线粒体腔中逐渐形成卵黄粒(图版I-6,MY)。

2.2.3 高尔基复合体与卵黄形成的关系 在卵黄发生过程中,高尔基复合体末端膨大、分离形成小泡,再由小泡融合成为液泡。随后,卵黄蛋白开始在高尔基液泡中沉积,与此同时,一部分高尔基液泡为

脂类物质沉积形成电子密度较浅、均质的脂肪粒(图版I-3,GY,L)。

2.2.4 溶酶体参与卵黄粒的形成 在文蛤卵母细胞卵黄发生过程中,细胞中的溶酶体包围了许多组分,形成髓样结构,并逐渐被溶酶体内的水解酶消化为细小颗粒,这些颗粒在溶酶体中融合、蓄积,电子密度逐渐增大,随后演变为卵黄颗粒(图版I-2,LY)。

2.2.5 微吞饮泡和多泡小体也是形成卵黄粒的可能途径 在卵母细胞进入卵黄发生阶段,质膜出现明显的微吞饮活动,质膜凹陷,形成小泡。在吞饮泡内逐渐沉积电子密度较高的小颗粒,然后形成卵黄粒(图版I-1,MP)。此外,胞质中还有1种有膜包裹的、来源不肯定的泡状结构,此结构与曾志南^[4]、沈亦平^[9]在文中描述的多泡小体相似,泡内包含有电子密度较高的物质(图版I-1,MVB),这些多泡小体也可能参与卵黄粒的形成。

3 讨论

3.1 卵黄发生期间卵母细胞内部的变化

文蛤卵黄发生过程中超微结构的变化规律与其他软体动物基本一致^[4-9]。在卵黄合成早期,胞质中细胞器丰富,并开始活动。卵黄合成中期,质膜外凸,与外界进行物质交换。线粒体、高尔基复合体及内质网等细胞器活动很活跃,并形成大量的卵黄。卵黄合成后期,胞质中细胞器大大减少,卵质内贮存了大量的卵黄颗粒,为个体发育作好了准备。

3.2 细胞器与卵黄发生的关系

软体动物卵母细胞卵黄发生过程中,线粒体、高尔基复合体和内质网等细胞器能直接参与卵黄的形成已为许多研究者所证实^[2-9],但其参与形成的方式却不尽相同。Favard等^[14]首次证实扁卷螺(*Planorbis*)卵母细胞卵黄形成过程中线粒体可直接转变为卵黄粒。作者对文蛤卵母细胞卵黄发生的显微结构观察表明,在文蛤卵母细胞卵黄发生期间,只有一部分线粒体在其内部备有卵黄物质,这部分线粒体可能与上官步敏等^[5]在缢蛏(*Sinonovacula constricta*)卵母细胞中发现的II型线粒体一致;而另一部分线粒体,可能与上官步敏等^[5]所称的I型线粒体一致,保持正常的结构,以提供卵母细胞呼吸作用所需的能量(图版II-3,M)。

不同学者对内质网、高尔基复合体形成卵黄的方式持不同看法。Kevin等^[3]、Blades-Eckelbarger

等^[15]认为高尔基复合体和内质网共同作用形成卵黄,Beams等^[16]认为在粗面内质网囊泡中出现的致密颗粒,以后“流”出到光面内质网的囊泡中,再聚集成大的卵黄体。本研究发现内质网末端形成小囊泡,囊泡内被高电子密度物质所填充形成卵黄粒;或内质网盘绕成球状体,直接包绕在卵黄粒周围形成卵黄粒;内质网形成卵黄粒的这几种途径在其他双壳类中也有报道^[5,7,8]。高尔基体具有合成糖蛋白和脂蛋白的功能,经过高尔基体酿造、加工而形成的卵黄粒含有糖蛋白和脂蛋白^[8,17]。高尔基复合体在文蛤卵黄发生过程中数量较多,分泌活动也较活跃(图版I-3,GC),并被高、低电子密度不同的物质所沉积形成卵黄粒和脂肪粒。但没发现与内质网共同形成卵黄粒的现象。

卵黄发生过程中,溶酶体的活动很少见报道。而在文蛤的卵黄发生阶段,明显见到其卵母细胞中的溶酶体除了行使消化营养和更新结构的功能外,还包围和水解其他组分,最后变成卵黄粒。类似的演化也见于栉孔扇贝(*Chlamys ferrerii*)^[8]和长毛对虾(*Penaeus penicillatus*)^[17]的卵黄发生过程。Busson-Mabillot^[18]曾利用带阳离子的铁蛋白注射鲑鱼的卵母细胞,也观察到铁蛋白在溶酶体中沉积形成卵黄粒的过程,为卵黄粒的这种形成方式提供了一定的依据。

3.3 卵黄发生的原料来源

卵黄发生的原料可以从卵母细胞本身合成,即自体合成;也可以在卵母细胞以外的地方合成,然后进入卵母细胞,即异体合成^[19]。文蛤卵母细胞卵黄发生过程中,部分卵黄物质是卵母细胞本身的细胞器转变而成的,但合成这些卵黄颗粒所需的蛋白质在短时间内完全靠卵母细胞自身合成是不可能的,卵质内微吞饮小泡的出现以及细胞质膜的外凸现象,证实了文蛤卵母细胞从外界吸取了大量的物质。吞饮现象在许多软体动物卵母细胞中已观察到^[4-9],微吞饮活动是卵母细胞吸取外源卵黄物质的主要方式。在文蛤卵母细胞卵黄合成期间,质膜内的微吞饮活动活跃,质膜向外伸出大量的微绒毛,外源物质通过微绒毛管腔以吞饮泡形式输送到卵母细胞,作为合成卵黄粒的原料。细胞质膜外凸、微绒毛与吞饮小泡的出现,增加了细胞与外界的接触面积,扩大了与外源物质交换的通道。然而有关胞外物质的来源,目前有两种不同的意见。沈亦平等^[9]认为滤泡细胞直接参与了卵黄物质的合成与运输。

而曾志南等^[4]则认为,双壳类软体动物(青蛤 *Cyclina sinensis*)的卵子发生是属于孤立型的,即卵母细胞从母体组织获得它们的营养物质,而不需要特殊的滤泡细胞或营养细胞,很可能是从消化腺运输到性腺中来的。作者在光镜与电镜下未观察到文蛤卵母细胞外周有滤泡细胞存在,且各卵母细胞间隔大(图版I-1,II-4)。由此,认为后一种观点较合理,即文蛤卵母细胞发育过程中所需的卵黄蛋白不可能由滤泡细胞提供。文蛤的消化腺与性腺紧连在一起,其肠道组织穿经性腺,这一结构特征与青蛤^[4]、栉孔扇贝^[8]相同。由此可推测,文蛤外源卵黄蛋白可能来自消化腺。

致谢:浙江大学生命科学学院杨万喜教授对本文进行审阅、指导,同时得到温州医学院电镜室周溪等老师的大力协助,谨致谢忱。

参考文献:

- [1] Bracher J. 发育的生物化学[M]. 北京:科学出版社,1965.4-39.
- [2] 应雪萍,杨万喜. 泥螺卵黄发生过程中线粒体的变化[J]. 动物学研究,2001,22(5):379-382.
- [3] Kevin J, Craig M. Ultrastructure of the ovary and oogenesis in the methane-seep mollusc *Bathymnerita naticoides* (Gastropoda: Neritidae) from the Louisiana Slope[J]. Invertebrate Biology, 1997, 116(4):299-312.
- [4] 曾志南,李复雪. 青蛤卵母细胞发育过程和卵黄发生的超微结构研究[J]. 海洋学报,1991,13(5):679-683.
- [5] 上官步敏,刘正琮. 蛏蛎卵母细胞卵黄发生的超微结构研究[J]. 海洋与湖泊,1995,26(1):48-52.
- [6] 任素莲,王德秀,王如才. 太平洋牡蛎卵母细胞发育及卵黄发生的超微结构[J]. 中国水产科学,1999,6(4):4-6.
- [7] 林加涵,汪德耀. 僧帽牡蛎卵母细胞卵黄发生的超微结构研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版),1983,22(3):355-362.
- [8] 刘德模,洪水根. 栉孔扇贝卵母细胞卵黄发生的研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版),1996,35(3):412-416.
- [9] 沈亦平,张锡元. 合浦珠母贝卵子发育的超微结构研究[J]. 武汉大学学报(自然科学版),1993,5:101-108.
- [10] 张建中,李复雪. 文蛤年龄的研究[J]. 水产学报,1988,12(3):251-257.
- [11] 赫崇波,陈洪人. 滩涂养殖文蛤生长和形态习性的初步研究[J]. 水产科学,1997,16(5):17-19.
- [12] 应雪萍,张水善,宋晓东,等. 文蛤消化系统的形态学研究[J]. 海洋湖泊通报,2001,2:60-67.
- [13] 应雪萍. 文蛤肝脏细胞的超微结构研究[J]. 水产科学,2001,20(3):11-14.

- [14] Favard P, Carasso N. Origine et ultrastructure des plaquettes viteline de la planorbe[J]. Arch Anat Micr Morph Exptl, 1958, 47:211 - 229.
- [15] Blades-Eckelbarger P I, Youngbluth M J. The ultrastructure of oogenesis and yolk formation in *Labidocera aestiva* (Copepoda, Calanoida)[J]. J Morph, 1984, 179:33 - 46.
- [16] Beams H W, Kessel R G. Election microscope studies on developing crayfish oocytes with special reference to the origin of yolk [J]. J Cell Biol, 1963, 18:621 - 649.
- [17] 洪水根. 长毛对虾卵子发生的研究Ⅱ. 卵黄发生[J]. 海洋与湖沼, 1992, 23(3):280 - 284.
- [18] 丁汉波, 全允树, 黄 新. 发育生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1987. 91 - 94.
- [19] Busson-Mabillot S. Endosome transfer yolk proteins to lysosomes in the vitellogenic oocyte of the trout[J]. Biol Cell, 1984, 51:53 - 66.

Ultrastructure of vitellogenic oocytes in *Meretrix meretrix*

YING Xue-ping

(Department of Biological and Environmental Sciences, Wenzhou Normal College, Wenzhou 325027, China)

Abstract: The gonad samples were collected from *Meretrix meretrix* at different development stages in vivo, and using routine method the slices were made. Under transmission electron microscope the ultrastructure of vitellogenic oocytes was observed. The results show that, at the stage of vitellogenesis, the organelle, i. e. mitochondria, endoplasmic reticulum, Golgi complex, lysosome, micropinocytes vesicle and so on, is involved in the formation of yolk granules. At the early stage of vitellogenesis, a large amount of microvillie grow up and vitelline membranes appear; a lot of micropinocytes vesicle forms in the oocyte cytoplasm; the lysosome, mitochondria, Golgi complex and the rough endoplasmic reticulum are developed; the yolk precursor is increasing in number. At the mid-stage of vitellogenesis, well developed mitochondria and endoplasmic reticulum present in the cytoplasm and a lot of yolk granules form and accumulate in the oocyte; the evagination of the cytoplasmic membrane shows convex and leads to exchange the materials in the external environment. At the end stage, a large number of yolk bodies fill in the cytoplasm and the organelles are not developed. Also, a discussion is made on the raw materials from intracell or extracell for the formation of vitellogenesis during the development of oocytes.

Key words: *Meretrix meretrix*; vitellogenesis; ultrastructure

(For Plates I and II see attached PP7 - 8)