

银鲫受精卵中卵黄粒和线粒体的超微结构变化*

孙建民 梁绍昌 孙晓白
袁秀平 卞小宇 柯远发

(中国科学院水生生物研究所, 武汉)

提 要

电镜观察到雌性银鲫肝脏中正在形成的卵黄物质具有晶形主体结构, 银鲫卵的卵黄粒内无晶形主体, 第一次卵裂前的受精卵卵黄粒内有两种形式的空泡。一种是一些中空的小空泡; 另一种是一个大的空泡, 泡内含有线粒体和颗粒状的核糖体, 泡的边缘有片层状的类脂物。受精卵中的线粒体内部结构多样, 有些含有颗粒状物, 有些含有片层状的类脂物。

卵黄粒是卵生动物卵子中的一种重要成分, 其中贮存了大量的脂类物质, 两栖类的卵黄粒内存在着晶形主体结构 (Karasaki, 1963)^[1], 它们的降解形式以晶形主体结构的消散为特征 (高魁雄等, 1983)^[4]。最近, 宋裕昌等人报道文昌鱼卵及胚胎的卵黄粒内没有晶形主体, 而存在着一种以 7—9 个亚单位排列呈环状的管状结构^[2]。

我们研究了银鲫肝脏中和受精卵的卵黄粒的超微结构, 发现肝脏中正在形成的卵黄物质具有类似于两栖类的晶形主体结构, 而受精卵的卵黄粒无晶形结构, 一些受精卵卵黄粒含有和文昌鱼相似的环状和管状结构。鱼类的进化地位介于文昌鱼和两栖类之间, 它的卵黄结构变化可能暗示了生物进化过程中卵黄物质生化成分的改变。

材 料 和 方 法

银鲫 (*Carassius auratus gibelio*) 为本所关桥养殖场繁育的黑龙江省方正县银鲫的后代。1984 年 4 月至 6 月, 亲本经注射鲤鱼脑垂体催情产卵, 人工干法授精, 孵化水温为 18—23℃。从受精卵放入水中时开始计时, 每隔 10 分钟取材一次。

经催产产出的银鲫成熟卵 (具天然雌核发育特性), 一部份用雄性银鲫精液授精, 一部份用兴国红鲤精液授精。

将不同发育时期的受精卵放入 4℃ 的 2% 戊二醛固定液 (0.135M 磷酸缓冲液, pH7.4) 初固定。解剖镜下切取卵子动物极部份, 放入 2% 四氧化锇后固定, 乙醇逐级脱水。按

* 本工作系属中国科学院 1983 年资助课题。
1985 年 6 月 6 日收到。

Mets 法*进行水溶性介质包埋。60℃烘烤,超薄切片,透射电镜观察,照相记录。

三月至五月取 5 组雌性银鲫肝脏,以同样方法包埋制备。

实 验 结 果

(一) 卵黄粒

银鲫卵中卵黄粒数量多,大小不一,大多为椭圆形。与两栖类卵黄粒结构明显不同的是没有晶形主体,含有大量的非晶形颗粒,卵黄膜清晰可见(图版 I: 3, 5)。

我们观察了产卵期之前的雌性银鲫肝脏中正在形成的卵黄物质。此时的肝脏正大量合成卵黄,可在内质网的间隙中见到卵黄颗粒。卵黄区域着色浅,外围一薄层膜,内面沉积着晶状排列的卵黄蛋白,这些晶状颗粒着色深,晶粒间距约 75 Å (图版 I:1,2)。这种晶状结构与两栖类卵中卵黄粒的晶形主体结构相类似。

银鲫受精卵卵黄粒中,晶形结构消失,整个卵黄几乎都是非晶形的黑色颗粒。一些卵黄粒中出现一些形状不同的空泡。根据空泡的大小可以分为两种类型。

一种是一些中空的小空泡。这种小空泡的大小比较均匀,直径在 0.2—0.4 μm 左右,小泡周围有一层膜包围,泡内看不见有其它物质,小泡大多为椭圆形,也有一些为管状(图版 I:4)。在一些卵黄粒内也可见到由管状物组成的环形结构(图版 I:3)。

另一种是卵黄粒边缘部份出现的一个较大的空泡。这种泡内含有线粒体和核糖体,有的还可见到一团较小的卵黄,有些空泡和胞质相通(图版 I:3, 5, 6)。这种空泡体积较大,一般为椭圆形,直径在 8 μm 以上。泡周围有清晰的膜结构,泡内所含的线粒体结构完整,但嵴数较少(图版 I:5)。空泡和胞质相通处的卵黄膜破裂,附近可见到一些片层状结构的类脂物质(图版 I:6, II:8,9)。

一些卵黄粒的外缘出现成团的片层状类脂物质。这种片层光滑,呈不很规则的平行排列。这些片层有的和所包围的卵黄粒的卵黄膜相连(图版 II:7,8),有的片层则伸入到卵黄粒边缘大空泡内(图版 II:9)。在一些卵黄粒附近的片层状结构内还包裹着其它的一些内含物,片层上也附着有颗粒状物(图版 II:10)。这种结构类似于溶酶体。附着有片层状类脂物的卵黄几乎都出现大空泡这种形式,而出现小空泡的卵黄粒周围不见片层结构。

(二) 线粒体

鲫鱼卵子中含有很多线粒体,它们的形态和结构差异较大。卵子边缘区域的线粒体内,嵴的数目较多,而靠近卵中心部份的线粒体内,嵴的数目较少,大多呈现同心圆状。同一细胞中的线粒体出现如此多样的形态结构,只有卵子才有可能。

电镜照片清楚地显示出部份线粒体与片层状类脂物的联系(图版 II:11,12),可以看出线粒体内包裹了这种片层状结构。这种线粒体的分布具有一定的区域性。

在一部份线粒体内还包含一团染色较深的黑色颗粒,根据染色判断可能是糖原颗粒(图版 II:7,8)。

* Mets, M. D., A. Lagasse and E. S. Goethals, 1973. Ultrastructure Research, Vol. 42,3—4.

讨 论

根据迄今为止所报道的资料来看,卵生动物卵黄粒的结构有着明显的差异。两栖类卵黄粒中含有晶形主体结构已被很多作者所证实。宋裕昌等人最近发现文昌鱼卵黄粒无晶形主体,而含有一种管状结构。我们的实验表明,银鲫卵黄粒在肝脏中形成时和沉积于卵子之后,晶形结构发生变化。解释这些卵黄粒结构不同的原因只能从生物进化的角度去考虑。鱼类的进化地位介于头索类和两栖类之间,它们卵黄粒结构的差异可能是由于生物进化过程中,卵黄粒组分的改变而引起的。

银鲫受精卵卵黄粒中存在一些空泡,它们可能与卵黄的降解有关。两栖类的卵黄粒降解是以晶形主体开始脱落晶分子为特征的。而鱼类的卵黄粒降解应从出现空泡开始,很多还释放出片层结构的类脂物。“空泡化”可能是鱼类卵黄降解的基本特征。这些具膜小泡内可能含有多种水解酶,因为人们已经知道,卵黄中含有能分解卵黄高磷蛋白的一些酶类^[6,9]。

关于卵黄粒开始降解的时间,一些作者的看法不同 Bragg(1939)^[8] 认为两栖类的卵黄粒在神经胚以前无明显降解, Karasaki (1963)^[10] 认为两栖类的卵黄粒在囊胚期开始降解, Selman(1965)^[11] 认为爪蟾胚胎卵黄粒在原肠期才开始降解。高魁雄等(1983)^[4] 则发现林蛙胚胎卵黄粒在第一次卵裂时已开始降解。我们对银鲫受精卵所作的观察表明,少数靠近动物极的卵黄粒在受精后不久就开始部份地发生降解。

卵子受精 30—40 分钟后,正准备第一次卵裂,约 60 分钟(20℃左右)分成两个细胞,第一次卵裂前需要大量能量,并且需要准备大量的类脂物质作为建造新细胞的原材料。卵中所贮存的脂类绝大部分是以脂蛋白的形式堆积在卵黄粒中,所以需要降解部份卵黄,释放脂类物质,并需要将脂类转运到未来的分裂沟附近。

线粒体在卵黄的降解和脂类转运中,看来都起了很重要的作用。

线粒体与卵黄发生的关系已有人作过研究。Ward 等人发表的电镜照片清楚地表明,卵黄由线粒体发生。但卵黄的降解是否也与线粒体有关呢?从我们的实验看来,两者有重要的联系。卵黄的空泡内有结构清晰的线粒体,它们是怎样出现的还不清楚。

有些线粒体内含片层状类脂物,这种结构的线粒体极有可能起着转运脂类的作用。卵黄降解所释放的脂类物质有可能依靠这种结构转运到建造新细胞所需要的地方。

第一次卵裂前的受精卵中即已出现片层状结构的类脂滴。这种结构和以前报道的,用偏光显微镜对鱼类胚胎所观察到的卵黄囊中的双折射颗粒的出现相符^[1]。这些片层状的类脂物可能主要参与各种膜结构的形成,但它们可能也还有其它的作用。在某些分解的卵黄粒上可见到片层结构内包裹着一些黑色颗粒物(图版 II:10),这种类似于溶酶体的结构起什么作用还需进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] 孙建民, 1980. 几种家鱼胚胎发育期间液晶态的研究, 武汉大学学报(自然科学版), 4, 101—111。
- [2] 宋裕昌, 吴尚勤, 1986. 青岛文昌鱼卵卵黄粒内的一种亚微结构, 动物学报, 32(1), 32—34。

- [3] 林冶焕等译,惠特克等著,1982。线粒体——结构,功能和组装,科学出版社。
- [4] 高魁雄、顾国彦,1983。林蛙第一次卵裂时卵黄粒的超微结构变化,实验生物学报, **16**(3),325—337。
- [5] 傅文庆译,布拉舍著,1981。分子胚胎学引论,科学出版社。
- [6] Balisky, C., 1975. *An Introduction to Embryology*. Fourth edition, W. B. Saunders company, Philadelphia.
- [7] Beale, C., 1978. *Extranuclear Genetics*, Edward Arnold.
- [8] Bragg, A. N., 1939. Observations upon amphibian deutoplasm and its relation to embryonic and early development. *Biol. Bull*, **77**, 268—284.
- [9] Hoar, W. S., D. J. Randall and E. M. Donaldson, 1983. *Fish Physiology*, Vol. 11(A), Academic Press, New York.
- [10] Karasaki, S., 1963. Studies on amphibian yolk: I. The ultrastructure of the yolk platelet, *J. Cell Biol.* **18**, 135—152.
- [11] Selman, G. G., and G. J. Pawsey, 1965. The utilization of yolk platelets by tissues of *Xenopus* embryos studied by a safranin staining method, *J. Embryol. Exp. Morphol.* **14**: 191—212.

ULTRASTRUCTURAL CHANGES OF YOLK PLATELETS AND MITOCHONDRIA IN FERTILIZED EGGS OF CRUCIAN CARP

Sun Jianmin Liang Shaochang Sun Xiaobai Yuan Xiuping

Bian Xiaoyu and Ke Yuanfa

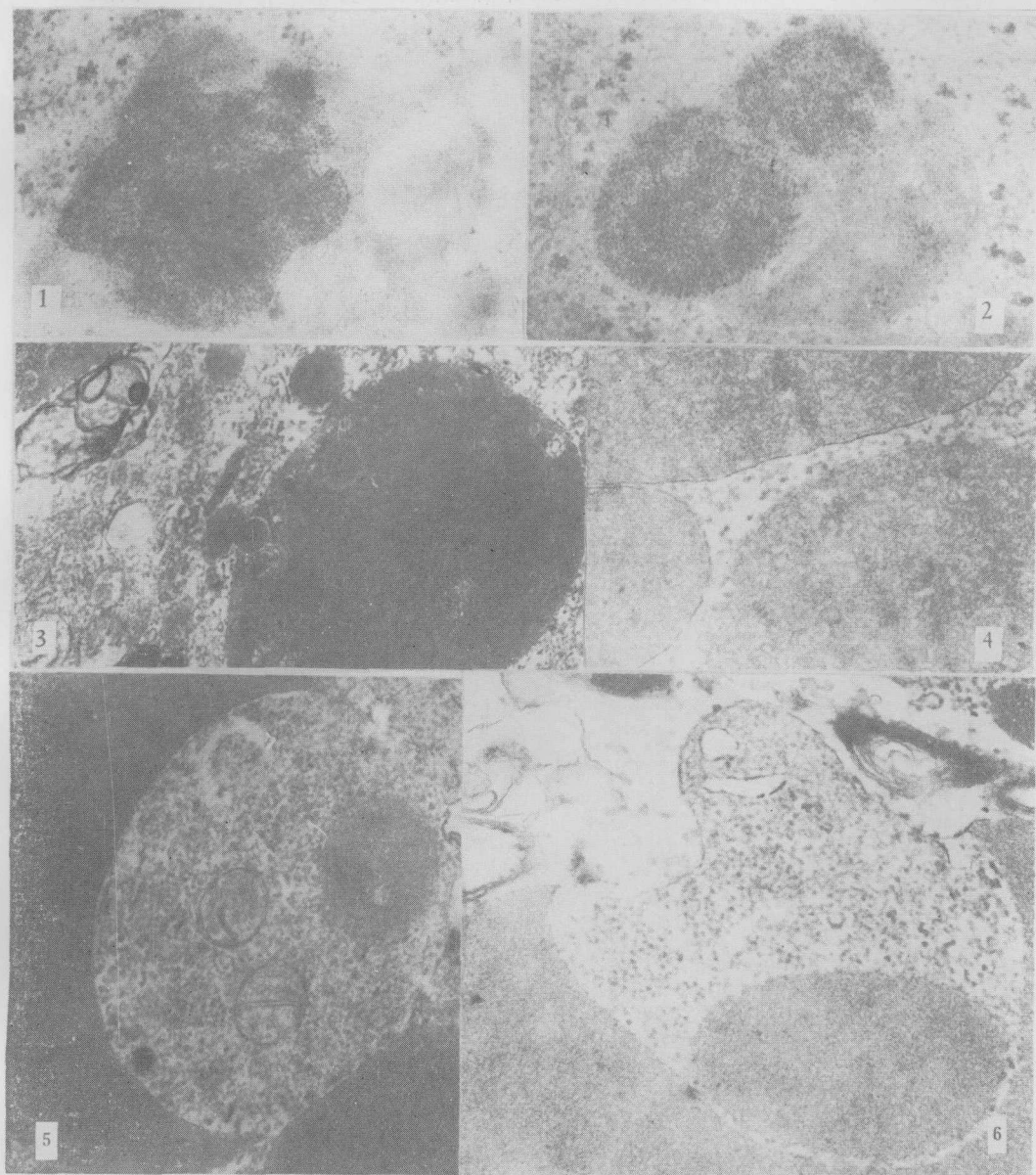
(*Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan*)

Abstract

The ultrastructural changes of the yolk platelets in fertilized eggs and liver of crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) have been studied through electron microscopy. It was found that the structure of yolk platelets of fish eggs is different from that of amphibians. In fish eggs, the yolk platelets have no crystal main body but consist of non-crystal dark granular structure. Before first cleavage, some yolk platelets in the fertilized fish eggs began to degrade forming two kinds of vesicles, of which one is small and empty, while the other is large, containing mitochondria and ribosomes. Around large vesicles, there are some lipid droplets in the form of lamellar structure.

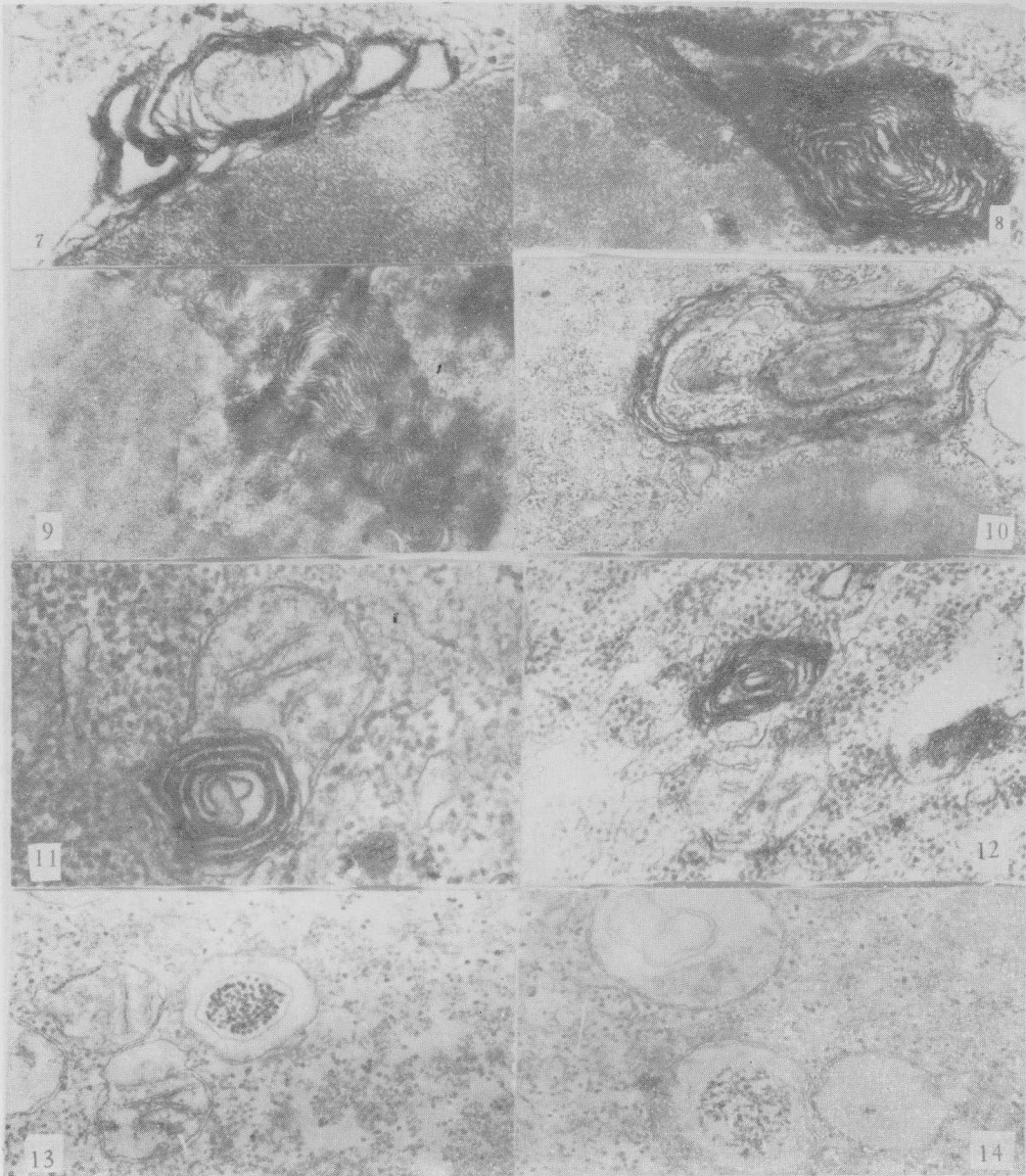
The internal structure of mitochondria of the fertilized eggs is multiform, containing dark granules or lamellar lipid droplets.

Key words Yolk platelets, Mitochondrion, Lamellar structure, fertilized egg, Crucian carp



1,2 四月份所取雌性银鲫肝脏中正在形成的卵黄粒。卵黄粒区域染色较浅,界膜清晰;卵黄蛋白以晶状结构沉淀,晶粒间隔约 75\AA 。 $\times 60,000$ 3 受精 40 分钟后的银鲫卵中开始部份降解的卵黄粒。卵黄粒边缘出现一些小空泡,可以见到由几个小泡排成的环状物。 $(\times 20,000)$ 4 银鲫受精卵的一些卵黄粒内部充满小空泡,卵黄膜消散。 $(\times 45,000)$ 5 受精 40 分钟后的银鲫卵中,部份卵黄粒内出现一大空泡,泡内含有线粒体及核糖体等物质。 $(\times 30,000)$ 6 有些卵黄粒内的内含物已部份和周围胞质相通,此区域可以见到片层状脂滴物质。 $(\times 40,000)$

1,2 Formative yolk platelets in the liver from female crucian carp in April. Area of yolk platelet stained lightly and its boundary membrane distinct. The yolk protein deposited in the form of crystals with distance between crystal granules about 75\AA . 3 Platelets began to degrade partially in eggs of crucian carp 40 minutes after fertilization. Some small vesicles appeared near the margin of yolk platelet. Membrane of yolk platelets intact. 4 Some yolk platelets in fertilized eggs are full of small vesicles, with membrane gradually dissipating, while that of non-degrading yolk platelets remains intact. 5 A large vesicle appeared in yolk platelet 40 minutes after fertilization, containing mitochondria and ribosomes. 6 In some yolk platelets, part of the contents in vesicle became connected with egg cytoplasm. The lamellar lipid structure can be seen in this area,



7,8 银鲫早期受精卵中部份卵黄粒外缘出现明显的片层状类脂物质,这些片层和卵黄膜相连。(×60,000, ×20,000) 9 部份卵黄粒所附着的片层状类脂物质和卵黄内的空泡相关。这些空泡内含物的颗粒与未分解的卵黄明显不同。(×30,000) 10 有些卵黄粒的界膜消散,边缘有一较大的片层状类脂物,这些片层内包裹有一些颗粒物质,这种结构和溶酶体结构相似。(×15,000) 11,12 银鲫受精卵中一些线粒体,内含片层状类脂物。(×50,000, ×60,000) 13,14 银鲫受精卵中一些线粒体的嵴为同心圆状,有些线粒体内含较大糖原颗粒。(×30,000, ×40,000)

7,8 Lamellar lipid structure appeared predominantly near the outer margin of some yolk platelets in the fertilized eggs and connected with the membrane of yolk platelets. 9 The lamellar lipid structure of some yolk platelets is related to the large vesicle in yolk platelet. Granules in the vesicle are darker and larger than those in non-degraded yolk platelet. 10 Around some yolk platelets of which the boundary membrane was dissipating, a lamellar lipid structure containing granules similar to the structure of a lysosome is present. 11,12 Some mitochondria in the fertilized eggs of crucian carp contain lamellar lipid material. 13,14 The mitochondria cristae in some fertilized eggs are in the form of concentric circles. Some cristae contain glycogen granules.