

黄海区太平洋鲱孵化腺及其 分泌颗粒的扫描电镜观察

阎淑珍

(山东大学, 济南, 250100)

提要 于1979—1983年以扫描电镜并辅以光镜观察了黄海区太平洋鲱的孵化腺及孵化酶颗粒。观察结果表明, 胚胎发育期有孵化腺发生。腺细胞的发生始自尾鳍期; 初发生分布于头部背面、前额、眼与听囊背缘表皮中, 腺细胞较稀疏, 随着胚胎的发育, 腺细胞逐渐扩展分布于6—7对肌节处的体背表面, 以及胚体与卵黄囊交界处; 至孵化前期腺细胞分布密集, 腺细胞质中充满孵化酶颗粒, 9—16颗不等, 用硼砂洋红染色呈桃红色。孵化酶颗粒自腺细胞顶部分泌出, 它来源于胚胎的外胚层; 扫描电镜观察分泌颗粒有两种: 早期分泌出的颗粒似花朵状, 晚期分泌出的呈圆形或椭圆形的桑椹状; 孵化腺为胚胎期的一种单细胞腺体, 孵化后2—3d便从表皮中消失。太平洋鲱的孵化, 正是由于孵化腺分泌的孵化酶软化了卵膜, 从而使胚胎较容易的破膜而出。

本世纪初已有人证明硬骨鱼类孵化酶素的存在(森協幾茂, 1910)。研究所涉及的主要有阔尾鲱等6种鱼^[3-6,8,9,11]。Rosenthal等曾对鲱作过简略观察^[10]。为对黄海太平洋鲱(*Clupea pallasii* Cuv. & Val.)的孵化机制作进一步了解, 作者就孵化腺的发生、分布以及对孵化酶的释放等作了观察和研究。

一、材料和方法

实验于1979—1983年进行。每年3—5月在黄海北部爱伦湾与桑沟湾等海域采集黄海太平洋鲱。选取自然成熟(2—3龄)的64条, 用湿法人工授精, 观察鲱活体胚胎发育各期至孵化, 将去除卵膜后的胚胎做显微照像。

1. 光镜观察的切片制作

样品去膜后, 按期用Smith氏液固定12h, 流水冲洗24h, 系列酒精脱水, 切片厚 $6\mu\text{m}$ 。用硼砂洋红染色。

2. 电镜观察样品的制作¹⁾

样品用4%戊二醛和1%锇酸固定, 以 $1/15\text{mol/L}$ 磷酸缓冲液($\text{pH} = 7.2$)冲洗(在 $1-4^{\circ}\text{C}$ 下操作), 丙酮系列脱水。用临界点干燥器干燥; 样品表面在真空喷镀仪内先后喷镀碳和铂金, 然后在Autoscan扫描电镜下观察。

收稿日期: 1989年4月1日。

1) 电镜样品为山东医学院孙鸿岳同志制作, 谨此致谢。

二、结 果

1. 孵化腺的形态

黄海鲱的孵化腺,在光镜下观察为单细胞腺,分布于表皮层中,呈圆形或椭圆形;大小不等,短径在 $6.8-8.1\mu\text{m}$,长径为 $9.5-13\mu\text{m}$,圆形腺细胞最小直径为 $4\mu\text{m}$ 。在光镜下观察活体,腺细胞质内充满孵化酶颗粒;以扫描电镜观察,腺细胞表面有许多嵴状条纹,有的呈半同心圆排列,腺细胞膨大突起(图版 I: 1—2)。

光镜观察结果表明,每一腺细胞质内,一般含有 9—13 个孵化酶颗粒,最多可达 16 个。硼砂洋红染色,颗粒呈粉红色,并且随着胚胎的发育,染色逐渐加深,当发育到孵化前期,被染色为桃红色,充满于腺细胞质中(图版 II:1a)。当孵化后,孵化酶颗粒被完全排出后,腺细胞则改变为上皮细胞,这与扫描电镜的观察结果是一致的。

扫描电镜下观察表明,由腺细胞释放出的颗粒有两种形态:在胚胎器官形成的早期所分泌的一种似花朵状,大小不一,基本为圆形(图版 I:3);另一种是在孵化前后被分泌出,表面不光滑似桑椹状,圆形或椭圆形,大小不等(图版 I:4)。

2. 孵化腺的发生、分布与消失

通过光镜的观察发现,在黄海鲱的胚胎尾褶期到眼色素期,孵化腺细胞已开始出现。孵化腺的分布有一定范围,也非同步一次形成。随着胚胎的发育,孵化腺逐渐遍布分布区域内。孵化腺最先见于额部、颅部背面,直到听囊背缘的表皮层中,但较为稀疏;胚胎发育至肌肉效应期,腺体逐渐扩展至听囊后,菱脑背面的表皮层中也有分布;随着胚胎发育至眼色素期,在头部、前额、眼眶间、吻部、头背面,一直达肌节前的表皮层中皆有分布,腺细胞数目也逐渐增多;当发育至孵化前期,孵化腺密布于胚胎头部、前额、眼眶四周、吻部(口窝背缘)和头背部,并一直延伸到胚体 6—7 对体节处,在体表背面和体侧也有密布(图版 II: 1—4)。偶见个别胚胎,其孵化腺分布区域可达体后背部(图版 I:5)。孵化后一日仔鱼,孵化腺大部已消退,孵化后 2—3d,腺体便完全消失(图版 II:5)。

在光镜观察中,胚胎口腔和咽部的上皮细胞内,未发现有孵化腺细胞的形成和分泌颗粒。

通过扫描电镜观察得知,除上述范围胚胎表皮中的孵化腺能分泌出孵化酶颗粒外,在眼睛表面角膜细胞中和卵黄囊与胚体相接表皮中,亦有分泌(图版 I:6)。

3. 孵化酶的释放

通过扫描电镜的观察得知,黄海鲱胚胎在胸芽期的孵化腺,能释放出孵化酶颗粒,释放过程是:自腺细胞顶部排放(图版 I:7),颗粒离开腺细胞,留有一孔洞(图版 I:8),然后该孔洞很快被修复完整。

孵化前后所释放出的孵化酶颗粒,随着排放时间的推移,其表面逐步有融解现象从而变得较光滑和体积缩小,颗粒表面有时出现小的窝洞(图版 I:9)。孵化酶颗粒释放时,多数为单个排放,但有时一同释放出两颗,形状大小不一并粘连在一起(图版 I:4)。此间未观察到有细胞质排放出。

当鲱的胚胎发育至体色素出现后,卵膜弹性和韧性明显下降,至孵化前期,卵膜一触即破。

三、讨 论

据报道,硬骨鱼的孵化腺在胚体的分布位置,可分为四种类型:(1)分布在胚体和卵黄囊表面,(2)只分布在胚体上或只分布在卵黄囊表面,(3)分布在口腔和咽上皮细胞中,(4)分布在胚体和卵黄囊表面兼分布在口腔和咽上皮中^[12]。

根据本文作者观察,黄海太平洋鲱孵化腺的分布,基本上属于上述的第一种类型,但稍有区别的是,孵化腺较为集中地分布于头部和胚体的前半部 6—7 对体节处胚表背面以及在体侧和卵黄囊相接处;此外,本文还首次观察到在眼睛表面角膜细胞中亦有分布。需要指出的是,偶而有少数胚胎在孵化前期,其孵化腺在体背表面的分布向后延伸。

本文未发现胚胎的口腔、咽部或上消化道的上皮细胞中有孵化腺的形成,由此,可以初步结论:黄海鲱的孵化腺是由胚胎的外胚层生成的。

硬骨鱼类与其他卵生动物一样,胚胎是在卵膜内发育而成的。黄海太平洋鲱的卵膜韧性、弹性均较大且具有一定的结构,与浮性鱼卵比较,卵膜也较厚,且有沉性卵粘着的特性。本实验观察到,当胚胎发育至晚期,卵膜的硬度、弹性和韧性逐渐降低,至孵化前降到最低点;当胚胎形成和发育到一定阶段,即将破膜孵出时,由孵化腺分泌出的孵化酶溶解了卵膜,使之软化,从而使胚胎能够较容易的破膜而出,最终结束胚胎期。由此我们得知,黄海太平洋鲱的孵化决非单纯靠胚胎的翻动阵缩,而是孵化酶起了决定性的作用。当胚胎孵化后,仔鱼表皮中尚存有残余的腺体,2—3d 后便完全消失。由此可见,孵化腺是胚胎时期的一种腺体。

扫描电镜观察表明,从亚显微结构区分孵化酶颗粒有早期和晚期分泌的两种;不同形态酶颗粒,用硼砂洋红染色有阶段性反应,染色逐阶段加深,这与对鲤的报道相似^[6],但其性质不详。根据文献[7]电泳分析报道,鲱的孵化腺中分析出有三种酶。故此黄海太平洋鲱孵化腺所分泌颗粒的性质,尚需要进一步研究和分析。

四、结 论

1. 黄海太平洋鲱的胚胎期有孵化腺发生,始自尾鳍期,至孵化前期发育到顶峰,孵化后 2—3d 便从体表皮中消失,为此可以说,孵化腺是胚胎期的单细胞腺体,它主要集中在头部(包括眼角膜上皮中)和体前半部 6—7 对肌节前体背表面。

2. 孵化腺细胞中充满孵化酶颗粒 9—16 个不等。首次观察到两种酶颗粒亚显微结构,胸鳍芽期分泌出的为花朵状,孵化前后分泌出的为桑椹状;分泌颗粒自腺细胞顶部排出,并留有孔洞,然后,孔洞被修补。

3. 孵化腺来源于胚胎的外胚层。

4. 太平洋鲱的孵化,是由胚胎的外胚层形成的孵化腺所分泌出的孵化酶起着决定性作用。

参 考 文 献

- [1] 阎淑珍,1982. 黄海区太平洋鲱鱼的孵化。海洋科学 14: 50—51。
- [2] 阎淑珍,1985. 黄海太平洋鲱鱼卵与早期卵膜的电镜观察。自然杂志 8(3): 239—241。

- [3] 大氏正己, 1955. フナの孵化腺の発生。日動雑 64(9): 277—279。
[4] 大氏正己、伊賀哲郎, 1959. オイカワの孵化腺の発生。日動雑 68(2—3): 135。
[5] 大氏正己、伊賀哲郎, 1961a. 数種の孵化腺細胞の分佈。日動雑 70(10): 353—355。
[6] 大氏正己、伊賀哲郎, 1961b. コイの孵化腺顆粒の染色性。日動雑 70(10): 34—35。
[7] 大井優子、小川典子, 1970. メダカ孵化酵素の電気泳動による分画。日動雑 79(17—18): 34—35。
[8] 柳井隆一, 1953. シラウオ孵化腺細胞の分佈。日動雑 62(1): 19—22。
[9] Ishida, J., 1944a. Hatching enzyme in the fresh-water fish *Oryzias latipes*. *Annot. Zool. Japan*, 22: 137—154。
[10] Rosenthal, H. & T. Iwai, 1979. Hatching gland in herring bryos. *Marine Ecology* 6(2—3): 123—127。
[11] Yanai, T., M. Ouzi & T. Iga, 1955. Development of the hatching gland in the teleost, *Hypomesus olidus* (Pallas). *Annot. Zool. Japan*. 29(4): 202—206。
[12] Yokoya, S. & E. Yukiko, 1976. Hatching gland in salmonid fish. *Cell Tiss. Res.* 172: 529—540。

ULTRASTRUCTURAL OBSERVATION ON THE HATCHING GLAND AND SECRETE GRANULA OF *CLUPEA PALLASI* FROM YELLOW SEA

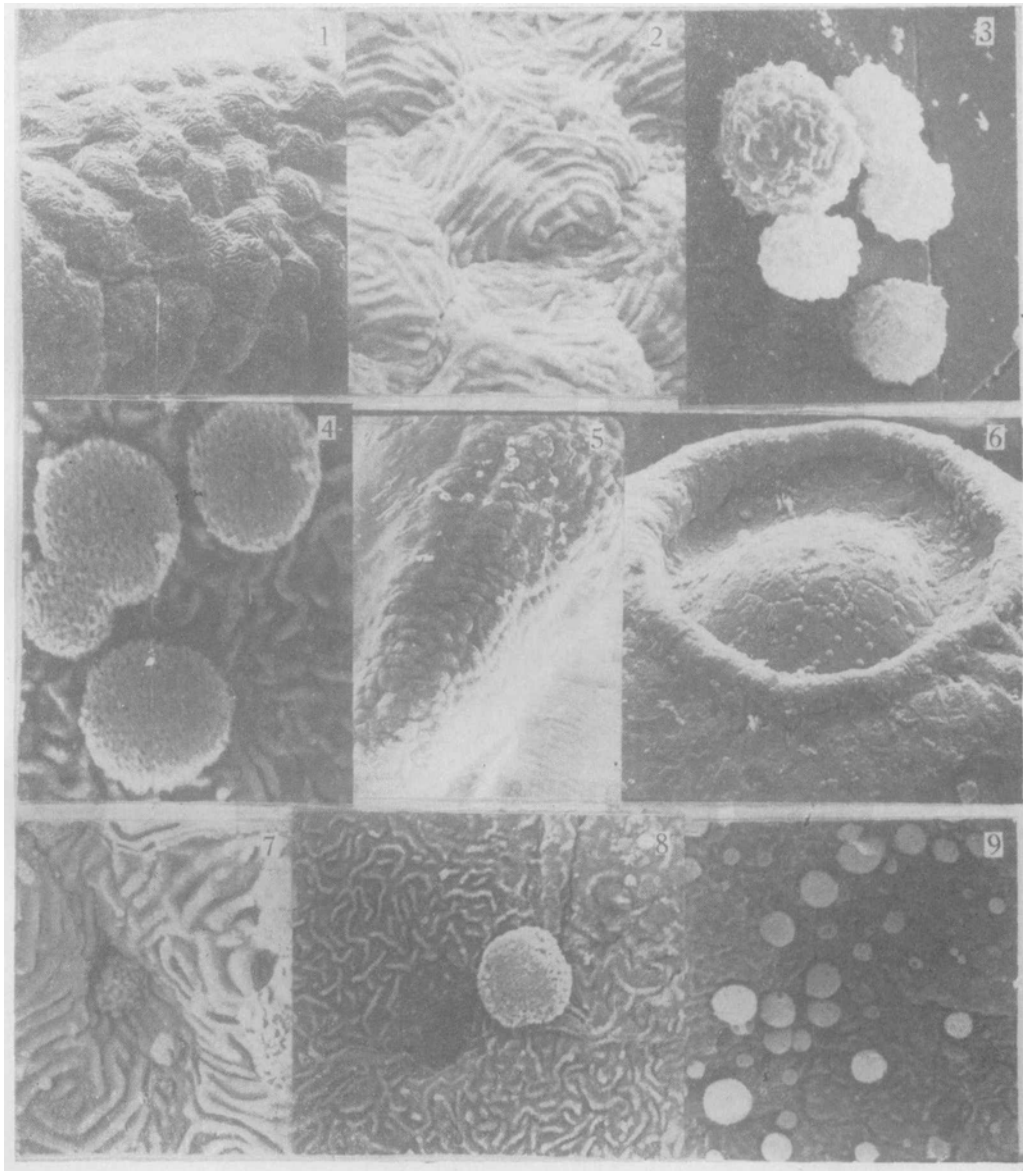
Yan Shuzhen

(Shandong University, Jinan, 250100)

ABSTRACT

Sixty four adult fishes (2—3 years old) *Clupea pallasii* were collected from Aifun Bay and Sanggou Bay in March—May, 1979—1983. Comparative observation with light microscopy and scanning electron microscopy shows: the hatching gland occurs at stage of embryo development. Gland cell appears first at stage of tail fold, spreading over dorsal region of head, eye and optic capsule, extending thinly to 6—7th somites on the dorsal body surface and between lateral body and yolk sac when the embryo is developing. The hatching gland is also found among corneal epithelium. Some enzymic granules (6—16) are found in cytoplasm of hatching gland cell. The granules are darkish pink when stained with borax carmine. They are secreted from top of cell.

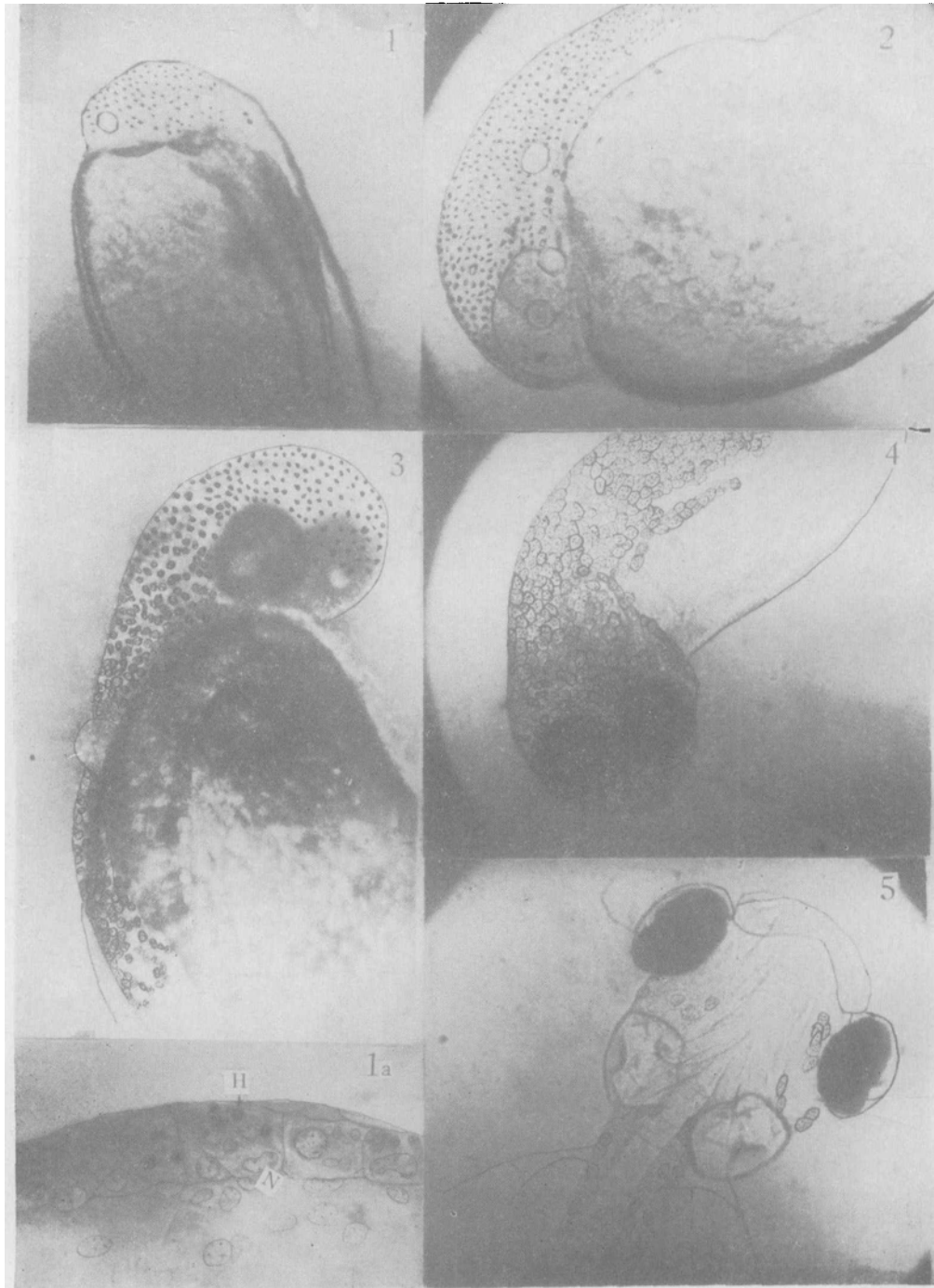
There are two kinds of granules observed by the scanning electron microscopy: the one secreted at earlier stage looks like flower, the other secreted at later stage looks like mulberry. The hatching gland is glandula unicellularis from ectoderm of embryo, but disappears after 2—3 days of hatching. The hatching of *Clupea pallasii* is easily done because of the softening of chorion by hatching enzyme.



孵化腺扫描电镜照片

Scanning Electron micrograph of hatching gland of *Clupea Pallasii*

1. 孵化后17h, 示头部背面孵化腺细胞, $\times 1\ 000$; 2. 上图的放大, $\times 4\ 000$; 3. 胸鳍芽期, 示分泌颗粒, $\times 4\ 000$; 4. 孵化后15h 仔鱼, 示分泌颗粒, $\times 9\ 000$; 5. 孵化后17h 仔鱼, 示头部、躯干部背面向后扩展的孵化腺, $\times 300$; 6. 刚孵化期, 示眼睛表面角膜细胞附有释放出的孵化酶颗粒, $\times 700$; 7. 孵化前期, 示分泌颗粒正推出, $\times 7\ 000$; 8. 孵化后15h 仔鱼, 示分泌颗粒刚离开腺细胞顶部, 孔洞尚未修复, $\times 5\ 000$; 9. 孵化后15h 仔鱼, 示孵化酶颗粒在融解, $\times 5\ 000$ 。



孵化腺显微照片

Microscopic micrograph of hatching gland of *Clupea Pallasii*

1.尾褶期,示孵化腺发生,50×14: 2.肌肉收缩效应期,示孵化腺分布于胚胎颈部、头部至第7体节背面上皮细胞中,50×14: 3.胸鳍芽期,示胚胎头部、体侧孵化腺,50×14: 4.体色素期,示胚胎吻部、头部、体侧部孵化腺密集,50×14: 5.一日仔鱼,示头背面孵化腺大部已消退,50×14: 1a.孵化前期,胚胎切片用硼砂洋红染色示孵化酶颗粒,由于酶颗粒不同分化阶段,染色反应亦有浅深,330×4 (H. 孵化酶颗粒, N. 核)。单位为 μm 。