

# 可口革囊星虫(*Phascolosoma esculenta*)卵黄合成期 卵母细胞发育及卵黄发生与卵膜形成的超微结构\*

竺俊全<sup>1</sup> 王 伟<sup>1</sup> 丁理法<sup>2</sup>

(1. 宁波大学 教育部应用海洋生物技术重点实验室 宁波 315211; 2. 温岭市水产技术推广站 温岭 317500)

**提要** 采用电镜技术观察研究了可口革囊星虫卵黄合成期卵母细胞发育及卵黄发生与卵膜形成的超微结构特征。结果表明, 可口革囊星虫卵黄合成期卵母细胞发育经历了卵黄合成初期、卵黄旺盛合成期及生长成熟期三个阶段。卵母细胞卵黄发生途径主要由线粒体、内质网、高尔基体等细胞器演变成卵黄粒, 以及吞饮作用形成卵黄粒。卵母细胞质膜外被有卵黄膜, 由卵母细胞自体形成, 且随生长而加厚; 卵黄膜具通透性, 外源营养物质能透过卵黄膜进入卵内。生长成熟的卵母细胞卵黄膜厚 7—9 $\mu\text{m}$ , 从内向外由纤维层、致密层、粒状突层及外膜构成, 保护卵母细胞维持特定的形状。

**关键词** 可口革囊星虫, 卵母细胞, 卵黄发生, 卵黄膜, 超微结构

**中图分类号** Q253

水生动物卵母细胞发育是胚胎学研究主要内容之一。卵黄发生及卵膜形成是卵母细胞发育过程中两大重要事件, 卵黄发生是为将来胚胎发育储备营养物质和调控因子的过程(姜永华等, 2005; 王玉凤等, 1999), 卵黄的多少、分布与组分不仅关系到卵子的成熟和质量, 而且关系到将来能否正常胚胎发育与孵化。对卵母细胞发育过程中卵黄发生规律的认识, 有助于养殖生产上开展生殖成熟的营养调控, 提高成熟卵的质量与数量; 卵黄膜的形成是为卵母细胞提供保护和内外物质交换的保障, 为受精与胚胎发育提供结构基础, 对成熟卵母细胞卵黄膜结构的详细了解, 有助于精子着卵与入卵过程的研究。

以往星虫类动物卵子发生的研究以组织学显微观察为主(Rice, 1966, 1974; Amor, 1993; Catalan *et al.*, 1994; 吴斌, 1999; Ying *et al.*, 2009), 而超微结构观察很少(Sawada *et al.*, 1968)。可口革囊星虫(*Phascolosoma esculenta*)是星虫门经济动物之一及增养殖种, 作者已经研究报道了该物种的精子发生及精子结构(竺俊全等, 2007)、卵子发生组织学(顾晓英等, 2009)、受精细胞学(竺俊全等, 2008)及胚胎与幼虫发育(金春华等,

2011)等内容。可口革囊星虫的卵母细胞是单个游离在体腔中发育至成熟的(顾晓英等, 2009), 卵母细胞卵黄发生、卵黄膜的形成与结构和那些在性腺中完成卵母细胞发育的无脊椎动物(曾志南等, 1991; 上官步敏等, 1995; 刘德膜等, 1996)有所不同。本研究在可口革囊星虫卵子发生组织学显微观察的基础上, 开展卵母细胞发育及卵黄发生与卵膜形成的超微结构研究, 藉以深化对可口革囊星虫卵子发生规律与特点的认识, 为其受精及胚胎发育机制的深入研究及人工繁殖的生殖成熟调控提供细胞学基础资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验用可口革囊星虫取自浙江温岭沿海潮间带, 4—8 月间每月采样一次, 个体重 2.0—2.5g, 活体带回宁波大学实验室暂养, 供实验用。

### 1.2 实验方法

透射电镜制样及观察 解剖取得雌性个体的体腔液, 用 5%戊二醛固定(体腔液与固定液体积比 = 1:1), 10min 后 3000r/min 离心 5min, 沉淀的细胞团(内

\* 浙江省重大科技专项重点农业项目, 2011C2013 号。竺俊全, 教授, E-mail: zhujunquan@nbu.edu.cn

收稿日期: 2011-11-23, 收修改稿日期: 2012-01-16

含卵母细胞)用 2.5%戊二醛于 4℃下固定过夜。翌日,用 1%锇酸于 4℃下后固定 2h。乙醇梯度浓度脱水,Spurr 氏低粘度包埋剂渗透、包埋, LKB-II 型超薄切片机切片,醋酸铀及柠檬酸铅双重染色, JEM-1200EX 型透射电镜观察与摄影。

**扫描电镜制样及观察** 繁殖季节(8月),挑选性成熟的雌性个体,解剖取得体腔液,用 2%戊二醛和 2.5%多聚甲醛的混合液固定(体腔液与固定液体积比 = 1:1), 10min 后离心(3000 r/min)5min, 沉淀的细胞团(内含生长成熟的卵母细胞)用 2%戊二醛和 2.5%多聚甲醛的混合液于 4℃下固定 2h, 然后转入 1%锇酸中于 4℃下后固定 2h。乙醇梯度浓度脱水,真空冷冻干燥、喷金,日立 S-3400N 型扫描电镜观察与摄影。

## 2 结果

### 2.1 卵黄合成期卵母细胞发育及卵膜形成

以卵母细胞核结构特征、卵质中细胞器变化与营养物质(如卵黄、脂滴)积累情况及卵膜厚与结构变化等为依据,将卵黄合成期卵母细胞发育大致分为卵黄合成初期、卵黄旺盛合成期及生长成熟期三个阶段。

**2.1.1 卵黄合成初期卵母细胞** 卵黄合成初期卵母细胞呈圆形,质膜不平整、局部明显内陷,质膜外的卵黄膜(Vitelline membrane)已经形成(图 1a);核圆形或椭圆形,核内染色质主要分布在近核膜一周,形态上有丝状、小泡状及细颗粒状三种,核膜凹凸不平(图 1b);胞质中有高尔基体、内质网、线粒体、核糖体等细胞器及卵黄粒(图 1c—f);卵黄粒大小不一,形态上可区分为电子密度高而均匀的类型及电子密度高与低两部分组成的类型(图 1c、d)。

此期卵母细胞的发育,卵黄膜厚从 0.5μm 增至 1.5μm,结构上分内外两层,外层为致密层,电子密度较高而均匀,内层为疏松层,由絮状物质组成,电子密度相对较低。卵黄膜厚 0.5μm 时,内

外两层厚度相同。卵黄膜与质膜连接紧密。卵母细胞发育过程中卵黄膜的增厚主要体现在内层。卵黄膜上有微孔(Micropores)通道,卵母细胞可以通过孔道与体腔液进行物质交换(图 1f, 图 3a、b)。

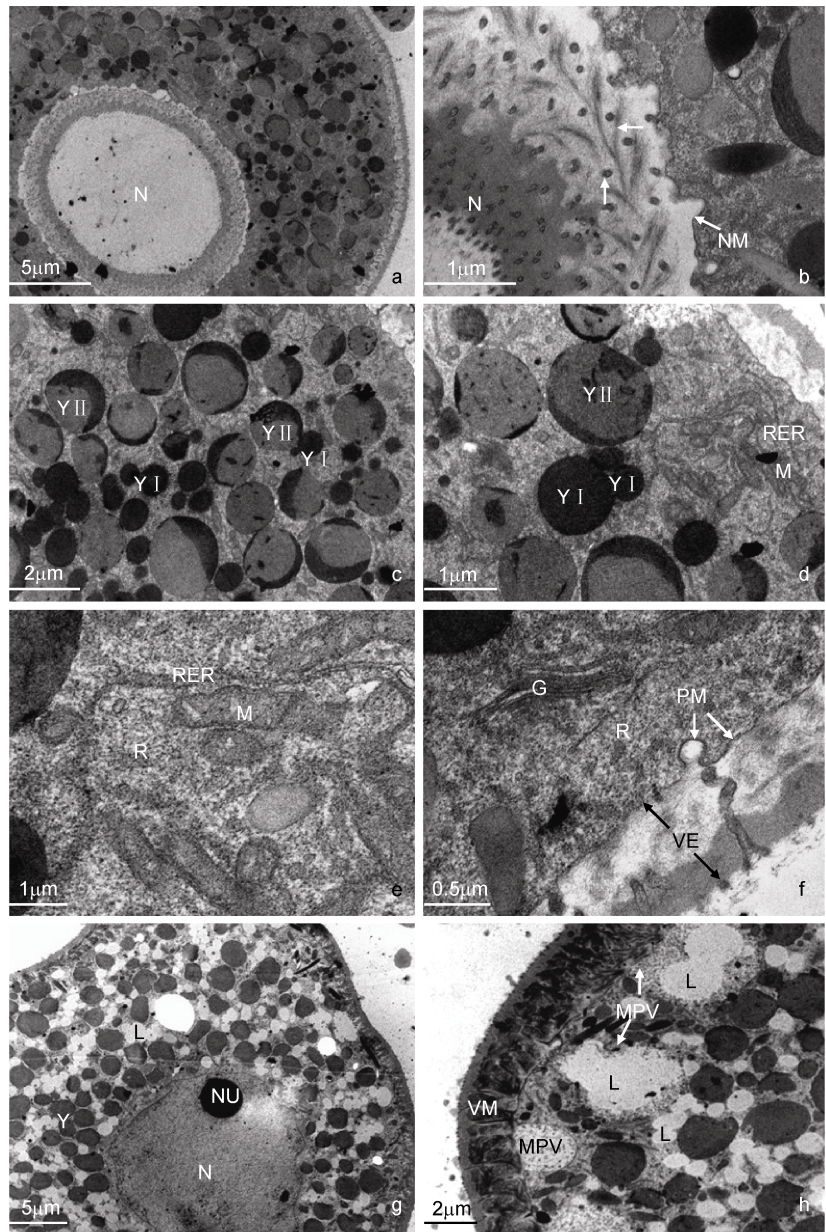


图 1 可口革囊星虫卵母细胞的超微结构

Fig.1 The ultrastructure of oocyte of *P. esculenta*

- a. 卵黄合成初期卵母细胞, 示核。b. 卵黄合成初期卵母细胞, 示核膜、丝状染色质(←)及小泡状染色质(↑)。c. 卵黄合成初期卵母细胞, 示型及型卵黄粒。d. 卵黄合成初期卵母细胞, 示型及型卵黄粒, 线粒体及内质网。e. 卵黄合成初期卵母细胞, 示线粒体、内质网及核糖体。f. 卵黄合成初期卵母细胞, 示卵黄膜、质膜、高尔基体及核糖体。g. 卵黄旺盛合成期卵母细胞, 示核、核仁、卵黄粒及脂滴。h. 卵黄旺盛合成期卵母细胞, 示卵黄膜、吞饮泡、卵黄粒及脂滴。G. 高尔基体; L. 脂滴; M. 线粒体; MPV. 吞饮泡; N. 细胞核; NM. 核膜; NU. 核仁; PM. 质膜; R. 核糖体; RER. 粗面内质网; VM. 卵黄膜; Y. 卵黄粒

**2.1.2 卵黄旺盛合成期卵母细胞** 卵黄旺盛合成期卵母细胞呈卵圆形或椭圆形, 随着卵母细胞的发育, 胞质大量增加, 卵黄粒明显增多, 并出现了大小不一的很多脂滴, 卵黄膜加厚, 核质比缩小(图 1g、h, 图 2a); 核膜凹凸不平, 核内染色质分布较均匀(图

2b)。与卵黄合成初期相比, 内质网变发达, 核糖体与线粒体增多; 线粒体形态上呈长条形或椭圆形, 可观察到结构典型的高尔基体及囊泡(图 2b—d)。卵黄旺盛合成期的早期卵母细胞吞饮活动旺盛, 质膜内陷形成吞饮泡(Micropinocytotic vesicle)(图 1h)。

此期卵母细胞的发育, 卵黄膜厚从 1.5 $\mu\text{m}$  增至 7 $\mu\text{m}$ , 外层致密层增厚不明显, 内层疏松层不断增厚、纤维化而变成纤维层; 卵黄膜表面出现粒状突, 粒状突之间有间隙; 卵黄膜上仍有微孔与外界相通(图 2a, 图 3c—f)。

**2.1.3 生长成熟期卵母细胞** 生长成熟的卵母细胞体积达最大, 卵黄膜与质膜间出现了间隙——即卵周隙(Perivitellin space), 胞质中含有丰富的卵黄粒及脂滴, 线粒体、内质网及核糖体等细胞器有所减少(图 2e—h)。

卵黄膜厚达 7—9 $\mu\text{m}$ , 从内向外分别为纤维层、致密层、粒状突层及外膜。纤维层厚 5.5—6.5 $\mu\text{m}$ , 致密层厚 1.5—2 $\mu\text{m}$ (图 2e, 图 3g)。纤维层分层排列, 由内向外纤维逐渐增粗, 内侧的 3—4 层纤维大多弯曲成弧形, 相互交织、沿卵的径向较规则排列(图 3g—j); 外侧的几层纤维粗细、长短不一, 走向与排列不规则, 与致密层相接的纤维粗短(图 3g); 致密层电子密度较高, 其上有微孔(图 3m); 致密层外为一层均匀分布的粒状突(图 3g、l); 粒状突层外为半透明的薄层外膜, 其上有小孔(图 3k、l)。

**2.2 卵黄合成期卵母细胞的卵黄发生**

**2.2.1 体腔中的营养物质通过卵黄膜上的微孔进入卵内合成卵黄粒** 卵黄合成初期的卵母细胞卵黄膜上有许多微孔通细胞内外, 体腔液中的营养物质(如卵黄蛋白等)可通过微孔进入卵内。观察发现, 微孔中总是充满电子密度较高的一些细颗粒物质, 这些物质进入胞质内可合成小的卵黄粒, 然后融合形成较大的卵黄粒(图 4a、b)。卵黄旺盛合成期卵母细胞及生长成熟的卵母细胞的卵黄膜上仍有许多微孔通道(图 3f、m), 体腔液中的营养物质仍可通过微孔进入卵内, 供

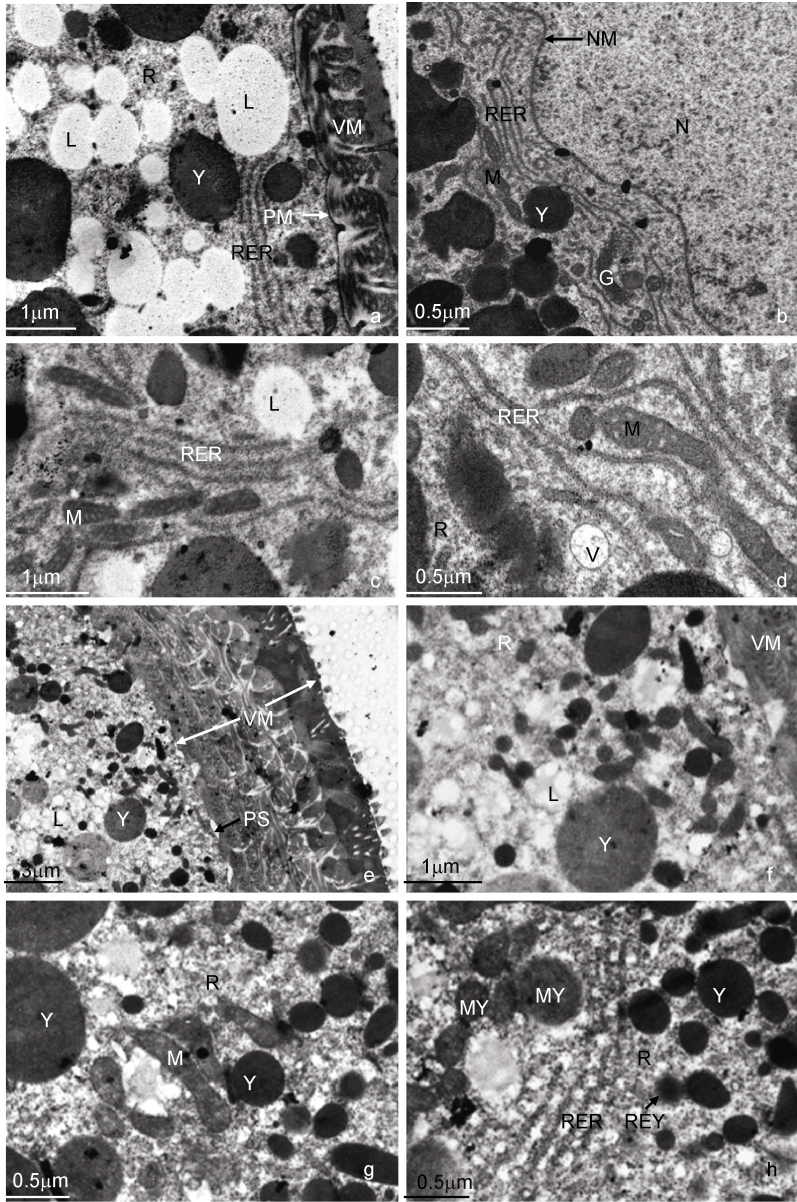


图 2 可口革囊星虫卵母细胞的超微结构

Fig.2 The ultrastructure of oocyte of *P. esculenta*

a. 卵黄旺盛合成期卵母细胞, 示卵黄膜、质膜、内质网、卵黄粒及脂滴。b. 卵黄旺盛合成期卵母细胞, 示核、核膜、卵黄粒、内质网、线粒体及高尔基体。c. 卵黄旺盛合成期卵母细胞, 示线粒体、内质网及脂滴。d. 卵黄旺盛合成期卵母细胞, 示线粒体、内质网及囊泡。e. 生长成熟的卵母细胞, 示卵黄膜、卵周隙、卵黄粒及脂滴。f. 生长成熟的卵母细胞, 示卵黄膜、核糖体、卵黄粒及脂滴。g. 生长成熟的卵母细胞, 示卵黄粒、脂滴、线粒体及核糖体。h. 生长成熟的卵母细胞, 示卵黄粒、内质网及核糖体。MY. 线粒体形成的卵黄粒; PS. 卵周隙; REY. 粗面内质网形成的卵黄粒; V. 囊泡

卵母细胞的发育与卵黄合成所需。

**2.2.2 吞饮泡形成卵黄粒** 卵母细胞进入卵黄旺盛合成阶段, 出现明显的吞饮活动, 质膜内陷形成吞饮泡, 吞饮细胞内及细胞外的物质, 其体积较胞质中的卵黄粒大, 内部含有细颗粒蛋白质(图 1h, 图 4c、d)。有的吞饮泡中间可见大的脂滴(图 1h)。吞饮泡与质膜分离后, 内部物质积累与浓缩、形成卵黄粒。

**2.2.3 线粒体形成卵黄粒** 卵黄旺盛合成期卵母细胞质中, 线粒体较多。一部分线粒体呼吸代谢提供卵母细胞发育所需能量, 另一部分线粒体转变为卵黄粒, 先是线粒体基质中沉积物(如卵黄蛋白)增多、电子密度增大, 然后嵴和内膜逐渐消失, 沉积物充满内腔, 最后变成卵黄粒(图 4e)。生长成熟的卵母细胞胞质中仍有一定数量的线粒体, 部分线粒体仍可演变成为卵黄粒(图 2h)。

**2.2.4 粗面内质网形成卵黄粒** 卵黄旺盛合成期卵母细胞质中, 粗面内质网较发达, 而且多呈管状。内质网通过局部断裂、脱落的方式形成小泡, 其内积累卵黄蛋白, 并聚集、融合, 演变成卵黄粒(图 4f、g)。也有的内质网环绕脂滴, 周围有许多核糖体颗粒附着, 脂滴内逐渐积累卵黄蛋白, 演变成成为卵黄粒(图 4h)。

**2.2.5 卵黄粒由高尔基囊泡形成** 卵黄旺盛合成期卵母细胞质中, 可观察到结构典型的高尔基体, 附近有膨大的高尔基囊泡, 囊泡内积累电子致密的蛋白质, 演变成卵黄粒(图 4i)。

由上述几种方式形成的卵黄粒, 可通过融合增大体积(图 4j)。

### 3 讨论

#### 3.1 卵黄合成期卵母细胞发育及卵膜的形成与作用

本研究表明, 可口革囊星虫卵黄合成期卵母细胞发育经历了卵黄合成初

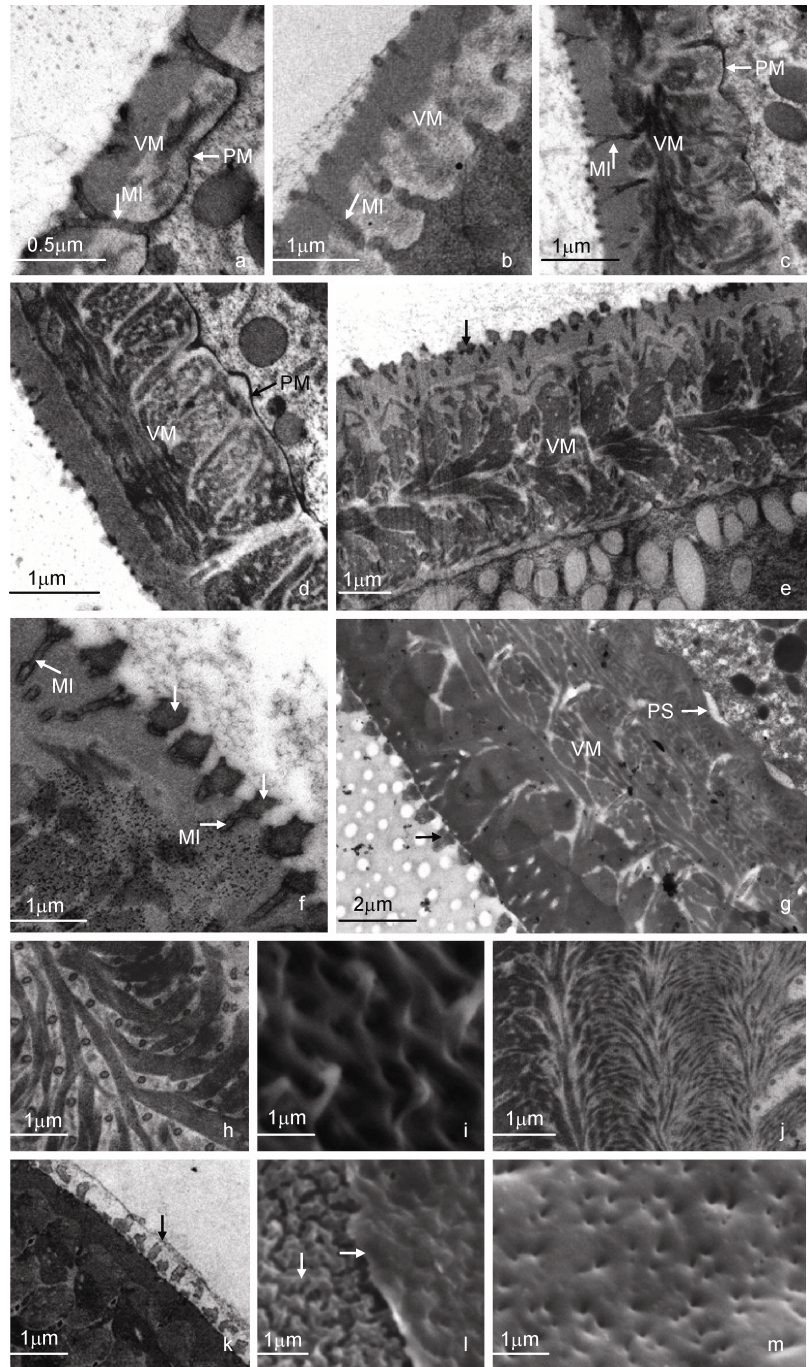


图3 可口革囊星虫卵母细胞卵膜形成的超微结构

Fig.3 The ultrastructure of vitelline membrane formation in oocyte of *P. esculenta*  
a. 卵黄合成初期卵母细胞卵黄膜结构, 卵黄膜厚约 0.5 $\mu$ m, 其上有微孔通道。b. 卵黄合成初期卵母细胞卵黄膜结构, 卵黄膜厚约 1.5 $\mu$ m, 其上有微孔通道。c. 卵黄旺盛合成期卵母细胞卵黄膜结构, 卵黄膜厚约 2.0 $\mu$ m, 卵黄膜外层有微孔。d. 卵黄旺盛合成期卵母细胞卵黄膜结构, 卵黄膜厚约 2.5 $\mu$ m, 示卵黄膜分层。e. 卵黄旺盛合成期卵母细胞卵黄膜结构, 卵黄膜厚约 4 $\mu$ m, 示卵黄膜分层、卵黄膜表面粒状突(↓)。f. 卵黄旺盛合成期卵母细胞卵黄膜结构, 示卵黄膜分层、卵黄膜上微孔及粒状突(↑)。g. 生长成熟的卵母细胞卵黄膜结构, 示卵黄膜表面粒状突(→)、卵周隙。h—j. 生长成熟的卵母细胞卵黄膜上纤维。k. 生长成熟的卵母细胞卵黄膜上的粒状突及外膜(↓)。l. 生长成熟的卵母细胞卵黄膜上的外膜(→)及粒状突(↓)。m. 生长成熟的卵母细胞卵黄膜致密层表面有许多微孔。a—h、j、k. 透射电镜观察; i、l、m. 扫描电镜观察。MI. 微孔

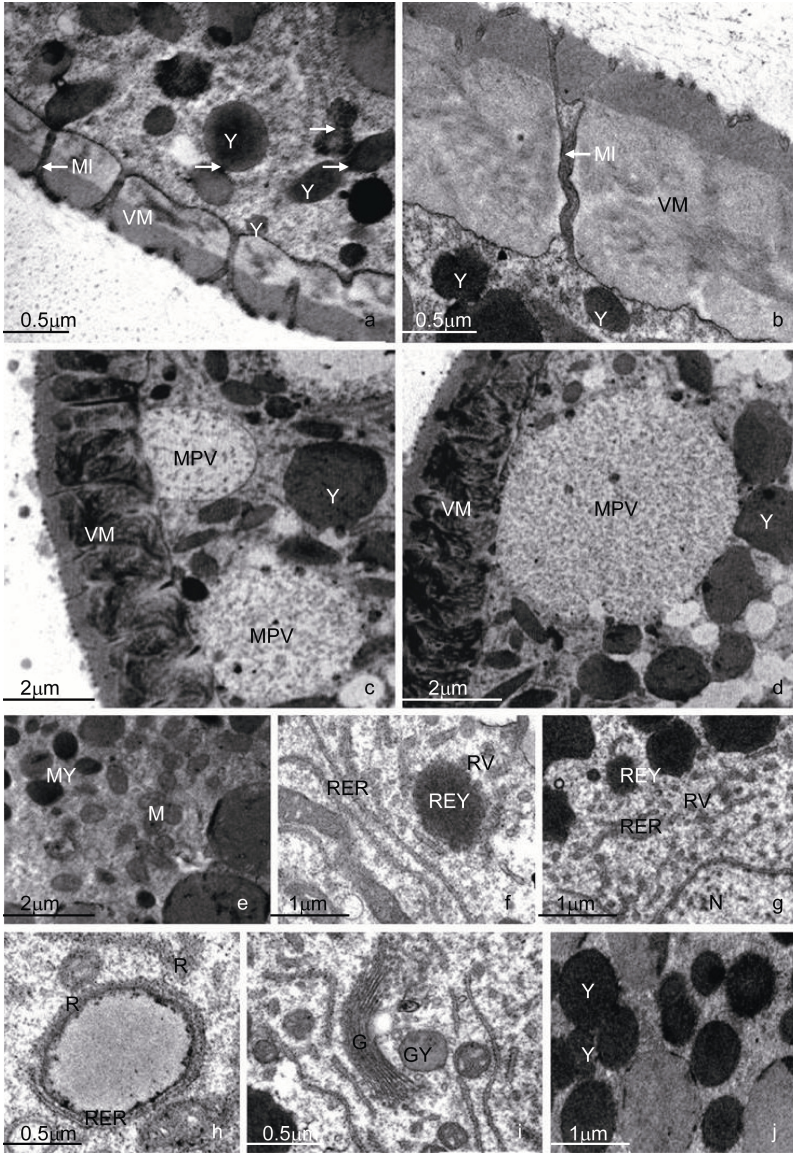


图4 可口革囊星虫卵母细胞卵黄发生的超微结构

Fig.4 The ultrastructure of vitellogenesis in oocyte of *P. esculenta*

a. 卵黄合成初期卵母细胞, 示卵黄膜上微孔通道及外源性营养物质从微孔进入卵内。b. 卵黄合成初期卵母细胞, 示卵黄膜上微孔通道内充满电子密度较高的细颗粒物质。c. 卵黄旺盛合成期卵母细胞, 质膜内陷形成吞饮泡, 外源及内源营养物质进入吞饮泡内。d. 卵黄旺盛合成期卵母细胞, 示吞饮泡内充满细颗粒物质。e. 卵黄旺盛合成期卵母细胞, 示线粒体演化为卵黄粒。f, g. 卵黄旺盛合成期卵母细胞, 示粗面内质网小泡形成卵黄粒。h. 卵黄旺盛合成期卵母细胞, 示粗面内质网包绕脂滴, 周围有许多核糖体聚集。i. 卵黄旺盛合成期卵母细胞, 示高尔基囊泡形成卵黄粒。j. 卵黄旺盛合成期卵母细胞, 示卵黄粒融合。

RV. 粗面内质网断裂形成的小泡; GY. 高尔基囊泡形成的卵黄粒

期、卵黄旺盛合成期及生长成熟期三个阶段。在此过程中, 卵母细胞细胞质增加, 营养物质积累, 卵黄膜增厚。卵黄合成初期卵母细胞内的线粒体、内质网及核糖体等细胞器数量比卵黄旺盛合成期少; 到卵黄旺盛合成期, 卵质中线粒体及内质网数量明显增加,

核糖体丰富, 细胞合成代谢增强, 营养物质大量积累。到卵母细胞长足、进入生长成熟期时, 卵质内细胞器有所减少, 细胞的代谢活动有所减弱。

卵黄合成初期的早期卵母细胞的卵黄膜厚约 0.5 $\mu$ m, 外层致密层与内层疏松层厚度基本相同。此后, 随着卵母细胞的长大, 卵黄膜的加厚主要体现在内层变厚上, 由此推测卵黄膜最早形成的可能是外层致密层, 后来在致密层内形成疏松层。可口革囊星虫卵母细胞外周无滤泡细胞, 卵黄膜的形成只能靠卵母细胞自身, 一方面从体腔液中吸取营养物质, 另一方面又不断分泌合成卵黄膜的物质到质膜外, 从而使卵黄膜不断增厚。因此, 可口革囊星虫卵母细胞的卵黄膜属初级卵膜(Primary envelope)。据研究, 硬骨鱼类卵母细胞发育过程中, 形成卵黄膜的物质是由内质网合成的, 先由高尔基体将内质网的分泌物装配成小泡, 然后小泡中内含物释放于微绒毛间形成初级卵膜(Anderson, 1967)。可口革囊星虫卵黄合成期卵母细胞发育过程中, 内质网及高尔基体均存在, 卵黄膜形成的物质供给可能也依赖于这两种细胞器的合成作用。

生长成熟的卵母细胞卵黄膜较厚, 由内向外依此为纤维层、致密层、粒状突层及外膜, 其中纤维层最厚。纤维层富有弹性与通透性, 致密层对纤维层起保护作用, 其上微孔具有通透性, 粒状突层具间隙, 外膜具小孔。此种卵黄膜结构牢固、透性好, 既能保护卵母细胞、维持特定的形状, 又有利于卵母细胞与体腔液进行物质交换。繁殖季节卵母细胞充满体腔时, 卵黄膜的保护作用不至于卵母细胞相互挤压而发生形变(顾晓英等, 2009)。粒状突层与外膜, 可能与受精时精卵相互作用相关。可口革囊星虫是体外受精的动物, 受精后卵黄膜变成受精膜, 胚胎发育过程在受精膜保护下进行, 有利于提高孵化率(金春华等, 2011)。

### 3.2 卵母细胞卵黄合成途径

可口革囊星虫卵黄合成期卵母细胞卵黄发生途

径主要由线粒体、内质网、高尔基体等细胞器演变成卵黄粒, 以及卵母细胞吞饮作用形成卵黄粒。

在动物卵母细胞卵黄发生时期, 线粒体数量增多是普遍规律。多数无脊椎软体动物, 如青蛤(*Cyclina sinensis*)(曾志南等, 1991)、缢蛏(*Sinonovacula constricta*)(上官步敏等, 1995)、栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)(刘德膜等, 1996)、僧帽牡蛎(*Ostrea cucullata*)(林加涵等, 1983)等卵母细胞卵黄发生期间, 只有一部分线粒体在其内部装配卵黄物质演变成卵黄粒, 另一部分线粒体保持正常的形态结构, 为卵母细胞的代谢供给能量。本研究的可口革囊星虫卵母细胞卵黄发生过程中也只有部分线粒体演变为卵黄粒, 与上述软体动物相似。

内质网是卵母细胞蛋白质合成的主要场所。本研究观察到可口革囊星虫卵黄发生期卵母细胞粗面内质网较发达, 以两种方式参与卵黄粒的形成: 粗面内质网小泡积累蛋白物质, 聚集、融合演变成卵黄粒; 粗面内质网包绕脂滴积累蛋白物质演变为卵黄粒。卵黄粒的这两种形成方式也见于僧帽牡蛎(林加涵等, 1983)、缢蛏(上官步敏等, 1995)等中研究报道。

高尔基体产生高尔基囊泡, 囊泡内沉积卵黄蛋白形成卵黄粒的方式在无脊椎动物中普遍存在(曾志南等, 1991; 上官步敏等, 1995; 颜素芬等, 1995; 刘德膜等, 1996)。本研究在可口革囊星虫中也观察到了卵黄粒的这种形成方式。由于高尔基体是细胞分泌颗粒酿造、浓缩、加工、运输的场所, 并具有合成糖蛋白和脂蛋白的功能, 因此高尔基囊泡形成的卵黄粒主要成分为糖蛋白与脂蛋白(洪水根, 1992)。在可口革囊星虫卵母细胞卵黄旺盛合成期, 发现胞质中有很多脂滴, 部分脂滴可能也是高尔基囊泡积累脂类物质而形成的。

关于卵黄合成的原料来源, 一是内源性的, 由卵母细胞自体合成; 二是外源性的, 卵母细胞外合成进入卵母细胞内。在可口革囊星虫卵母细胞卵黄发生期间, 细胞体积增大, 卵黄大量积累, 单靠自体合成途径难以满足卵黄粒形成需要的原料, 还需要外源补给营养物质。由于可口革囊星虫卵母细胞是单个游离在体腔液中发育的, 细胞外周无滤泡细胞, 因此, 外源营养物质的供给比和卵母细胞在卵巢中发育的动物更为重要。可口革囊星虫卵母细胞卵黄膜具有通透性, 体腔液中的营养物质(如卵黄蛋白)可透过卵黄膜进入卵内, 供卵黄粒合成所需; 另外, 可口革囊星虫卵母细胞还通过吞饮作用吸收体腔液中高分子物质,

合成卵黄粒, 这种吞饮现象也见于其它无脊椎动物卵母细胞发育过程中(林加涵等, 1983; 洪水根等, 1987; 曾志南等, 1991; 颜素芬等, 1995; 刘德膜等, 1996)。卵母细胞在性腺中发育成熟的双壳类软体动物, 消化腺是营养物质的贮存场所, 营养物质可从消化腺转移到性腺(曾志南等, 1991)。但可口革囊星虫卵母细胞早期就脱离卵巢单个游离在体腔液中, 与卵巢失去联系, 因此, 外源营养物质只能依靠体腔液供给。

## 参 考 文 献

- 上官步敏, 刘正琼, 1995. 缢蛏卵母细胞卵黄发生过程的超微结构研究. 海洋与湖沼, 26(1): 48—53
- 王玉凤, 堵南山, 赖伟, 1999. 罗氏沼虾卵母细胞细胞器与卵黄发生的关系. 水生生物学报, 23(1): 24—28
- 刘德膜, 洪水根, 1996. 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), 35(3): 412—416
- 吴斌, 1999. 光裸方格星虫(*Sipunculus nudus* L.)生殖细胞及胚胎发育. 广西科学, 6(3): 222—226
- 林加涵, 汪德耀, 1983. 僧帽牡蛎卵母细胞卵黄发生的超微结构研究. 厦门大学学报(自然科学版), 22(3): 356—363
- 竺俊全, 王武, 许式见等, 2007. 可口革囊星虫的精子发生及精子结构. 动物学报, 53(4): 733—741.
- 竺俊全, 王武, 应雪萍等, 2008. 可口革囊星虫受精过程及早期卵裂的细胞学变化. 动物学报, 54(2): 290—298
- 金春华, 竺俊全, 许式见等, 2011. 可口革囊星虫(*Phascolosoma esculenta*)胚胎及幼虫发育研究. 海洋与湖沼, 42(1): 94—100
- 姜永华, 颜素芬, 宋振荣, 2005. 凡纳滨对虾卵母细胞卵黄发生的超微结构. 动物学报, 51(1): 133—141
- 洪水根, 1992. 长毛对虾卵子发生的研究: 卵黄发生. 海洋与湖沼, 23(3): 280—288
- 洪水根, 汪德耀, 1987. 鲎的卵黄发生. 海洋与湖沼, 18(3): 286—290
- 顾晓英, 竺俊全, 许式见等, 2009. 可口革囊星虫(*Phascolosoma esculenta*)卵子发生的组织学研究. 海洋与湖沼, 40(3): 283—288
- 曾志南, 李复雪, 1991. 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, 13(5): 679—686
- 颜素芬, 李少菁, 上官步敏, 1995. 锯缘青蟹卵母细胞的卵黄发生. 厦门大学学报(自然科学版), 34(3): 430—436
- Amor A, 1993. Reproductive cycle of *Golfingia margaritacea*, a bipolar sipunculan, in subantarctic water. Marine Biology, 117: 409—414
- Anderson E, 1967. The Formation of the primary envelope during oocyte differentiation in teleosts. J Cell Biol, 35: 193—212
- Catalan M A B, Yamamoto M, 1994. Annual Reproductive Cycle of Two Japanese Species of Sipunculans: *Siphonosoma*

- cumanense* (Sipunculidae) and *Phascolosoma scolops* (Phascolosomatidae). Pacific Science, 48(2): 145—157
- Rice M E, 1966. Reproductive biology and development in *Sipuncula*. Doctor Dissertation, Seattle: University of Washington, 46—66
- Rice M E, 1974. Gametogenesis in three species of *Sipuncula*: *Phascolosoma agassizii*, *Golfingia pugettensis*, and *Themiste pyroides*. Cellule, 70(2): 295—313
- Sawada N, Noda Y, Ochi O, 1968. An electron microscope study on the oogenesis of *Golfingia ikedai*. Mem Ehime Univ Sci, B6(1): 25—39
- Ying X P, Dahms H U Liu X M *et al*, 2009. development of germ cells and reproductive biology in the sipunculid *Phascolosoma esculenta*. Aquaculture Research, 40: 305—314

## ULTRASTRUCTURAL OBSERVATION ON OOGENESIS, VITELLOGENESIS AND VITELLINE MEMBRANE FORMATION DURING YOLK-SYNTHESIZING STAGE IN *PHASCOLOSOMA ESCULENTA*

ZHU Jun-Quan<sup>1</sup>, WANG Wei<sup>1</sup>, DING Li-Fa<sup>2</sup>

(1. Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology by the Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo, 315211;  
2. Wenling Fisheries Technology Extension Station, Wenling, 317500)

**Abstract** Electron microscopy technology was employed to investigate the ultrastructural changes during oogenesis, vitellogenesis and vitelline membrane formation in the sipunculan *Phascolosoma esculenta*. The results show that oogenesis in this species could be divided into three stages: the primary yolk synthesis stage, rapid yolk synthesis stage and maturation stage. Organelles including mitochondria, endoplasmic reticulum and Golgi apparatus can evolve into yolk granules via pinocytosis. The plasma membrane of oocyte is covered by vitelline membrane which is formed by the oocyte itself and thickens as the oocyte grows. The vitelline membrane is permeable, so external nutrients can penetrate through it and be utilized during oocyte development and vitellogenesis. The vitelline membrane of the growth mature oocyte is 7—9 $\mu$ m thick, consisting of the fiber layer, the dense layer, granular protuberance layer and jelly coat. This tough and flexible structure could help the oocyte to maintain the specific shape.

**Key words** *Phascolosoma esculenta*, Oocyte, Vitellogenesis, Vitelline membrane, Ultrastructure