

# 鲨的卵黄发生

洪水根 汪德耀

(厦门大学细胞生物学研究室)

**提要** 本文利用光学显微术和电镜显微术研究中国鲨 (*Tachypleus tridentatus* Leach) 的卵黄发生,概述了中国鲨的卵子发生并探讨卵黄粒形成的途径。中国鲨的卵子发生可划分为卵原细胞、早期卵母细胞、卵黄发生前的和卵黄发生的卵母细胞4个阶段。卵黄粒是在卵黄发生的卵母细胞中出现。5种细胞组分为:线粒体、平滑内质网膜囊、高尔基液泡、多泡小体和微吞饮泡参与了卵黄粒的形成。本文还讨论了卵黄粒的形成与细胞器的代谢之间的关系,比较了中国鲨与美洲鲨之间卵黄发生的差异。

卵黄发生是动物卵子发生中一个很重要的代谢活动。卵黄的量及分布决定胚胎发育的方式。因此,卵黄发生的研究,历来受到有关学者的重视。

最早是 Gardiner 在关于美洲鲨卵子发生的研究中涉及到鲨卵黄发生的<sup>[6]</sup>。1967年, Dumont 等又从超微结构方面对美洲鲨的卵黄发生作了研究,但他们的结果却不尽一致<sup>[7]</sup>。至于中国鲨,除了 Sekiguchi<sup>[12]</sup>、蔡心一<sup>[4]</sup>分别对分布于日本和中国的鲨胚胎发育作了研究以外,有关中国鲨的卵黄发生则至今尚未见有报道。本研究报道了这方面的资料,并与美洲鲨的卵黄发生相比较。

## 一、材料与方 法

试验所用的材料,取自厦门沿海沙滩捕获的成体雌鲨的卵巢。所用的方法见文献[4]。

## 二、观察结果

### (一) 中国鲨卵子发生概述

中国鲨的卵巢由大量分枝的卵巢小管组成。在成体的雌鲨中,成熟的卵及卵巢小管实际上占据了整个腹腔。卵巢小管由生殖上皮组成,外围有结缔组织。

中国鲨的卵子发生可划分为卵原细胞、早期卵母细胞、卵黄发生前的和卵黄发生的卵母细胞4个阶段。

卵原细胞(图版 I:1, 5-Oo)由生殖上皮发育而成。细胞近于椭圆形,其短径约9—12  $\mu\text{m}$ ,长径约12—18  $\mu\text{m}$ 。细胞质中的细胞器很不发达。细胞呈嗜酸性。早期卵母细胞(图版 I:2, 6-Oe)近于球形,大小在12—60  $\mu\text{m}$ 之间。细胞质呈嗜碱性(图版 II:2 箭头所示)。卵黄发生前的卵母细胞(图版 I:3, 8-Op)为球形,大小在60—500  $\mu\text{m}$ 之间。与前一时期相比,卵母细胞的质膜外尚有一层基膜所覆盖(图版 I:8-BL),细胞器发达,但卵黄粒尚未形成。卵黄发生的卵母细胞(图版 I:4, 7, 9-Ov)包括500  $\mu\text{m}$ 以上的。卵黄膜(图版 I:9-VE)的出现是这个时期卵母细胞的明显标志。此时期卵母细胞生长非常迅

速，在短时间内，形成并积累了大量的卵黄粒。卵母细胞达到它的最后体积时，卵径达 2—3 mm，总体积增长了  $7 \times 10^3$  倍。

## (二) 中国鲨的卵黄发生

进入卵黄发生的卵母细胞阶段，随着卵黄膜的出现，细胞质中开始出现卵黄粒。利用 PAS 反应和汞溴酚蓝染色，可以显示卵黄粒先在细胞质的外围区域出现。在靠近皮质部分的卵黄粒较细密，在皮质下，卵黄粒逐渐加大。卵黄粒最初分布在细胞外周，然后逐渐向细胞中央扩散(图版 I:4-Y)。卵黄粒的分布有一个从动物性极向植物性极递增的分布梯度。根据观察，卵黄粒的形成可能与下列几种细胞器的活动有关。

### 1. 卵黄粒由线粒体演变而成

鲨卵细胞线粒体的一个显著特点是，线粒体的基质颗粒很多(图版 I:10-M)。在卵黄发生期间，线粒体的形状大多数都变为近球形。其中一部分线粒体，基质颗粒逐渐增多，并蛋白质化，电子密度越来越高。蛋白质化最先从基质的外沿部分出现(图版 I:11 箭头所示)，然后逐渐向中央扩展，最后，整个线粒体演变为卵黄粒。图版 I:12 系一个由线粒体演变而成的卵黄粒，线粒体基本上蛋白质化，但外膜还保留线粒体的双膜特征，而且卵黄粒中还可看到嵴的残余痕迹(图版 I:12 箭头所示)。这在其它方式所形成的卵黄粒是看不到的。另外，利用 Altmann 染色可以显示，在卵黄发生的最初阶段，细胞质充满着为酸性品红染成红色的线粒体颗粒，随着卵黄粒的出现，红色颗粒大为减少，有的红色颗粒仅被染为半月形或月牙形。这也表明，一部分线粒体可能演变为卵黄粒。

### 2. 卵黄粒在平滑内质网膜囊中形成

在卵黄发生的早期阶段，细胞质出现大量形状不规则的、电子密度低的平滑内质网膜囊。随着卵黄发生，这些膜囊中逐渐出现一些电子密度高的蛋白质沉淀物(图版 I:13 箭头所示)。这些浓缩物出现的位置较无规律，而且最初是无固定形状，只有当浓缩物较多时才形成一个球状的核心(图版 I:13-Y)，然后逐渐扩大充满整个膜囊。这时，膜囊也从原来较为不规则的形状变为近于球形的卵黄粒。

### 3. 卵黄粒在高尔基液泡浓缩形成

在卵黄发生期间，细胞质出现许多含有细小的螺旋状的微丝的高尔基液泡(图版 II:14-GV)。这些细丝逐渐汇集在液泡中间形成蛋白质的浓缩块(图版 II:14 箭头所示)，并扩大为浓缩球(图版 II:15 箭头所示)。其中成分相当复杂，由各种不同大小的颗粒集合而成，电子密度相当高。随着蛋白质的沉淀、浓缩，小球逐渐变大，最后充满整个液泡，变成卵黄粒(图版 II:16-Y)。

### 4. 由多泡小体演变而成的卵黄粒

在卵黄发生前的卵母细胞中，含有许多多泡小体(图版 II:17-MVB)。它们也参与卵黄粒的形成。图版 II:17—19 示卵黄蛋白在多泡小体中逐渐沉积浓缩的可能过程。

### 5. 微吞饮活动也参与卵黄粒的形成

卵母细胞进入卵黄发生的阶段，质膜明显地出现微吞饮活动。质膜内褶凹陷，形成小泡，里面包含有质膜吞饮从细胞外进入细胞的卵黄蛋白。小泡逐渐从与质膜相连的基部分离开来，成为游离的微吞饮小泡(图版 II:20-MP)。这些小泡相互聚集形成微吞饮卵

黄粒(图版 II:21 箭头所示)。这种卵黄粒颗粒较细,主要分布在卵子外周的皮质部分。

### 三、讨 论

卵黄粒的形成与细胞器的关系从以下几点讨论。

#### (一) 与线粒体的关系

根据我们的观察,中国鲎在卵黄发生期间,一部分的线粒体演变为卵黄粒。

某些文献<sup>[6,9]</sup>已指出线粒体可以转变为卵黄粒,有的文献并无涉及<sup>[9]</sup>。本研究指出,在卵黄发生期间,并非所有的线粒体都转变为卵黄粒,卵黄发生完成后还有一部分的线粒体存在于卵黄粒之间维持卵母细胞的呼吸作用。

#### (二) 与内质网及高尔基体的关系

中国鲎卵子中大部分卵黄粒是在平滑内质网膜囊和高尔基液泡中浓缩形成的。这是中国鲎卵黄粒形成的主要方式。

由平滑内质网膜囊与高尔基液泡所形成的卵黄粒有明显的不同。首先,内质网膜囊形状不规则而高尔基液泡一般是近于球形;其次,在卵黄粒尚未在其中形成之前,前者是一种电子密度很低的空泡,后者在液泡中有呈螺旋细丝状的内容物;三是,内质网膜囊在形成卵黄粒的过程,蛋白质沉淀物的电子密度比较均匀,出现的位置也较无规则,而在高尔基液泡中所形成的卵黄粒,最初是由各种不同大小颗粒集合而成,并且首先形成一个浓缩球。根据这些差别,它们应该属于两种不同方式所形成的卵黄粒。

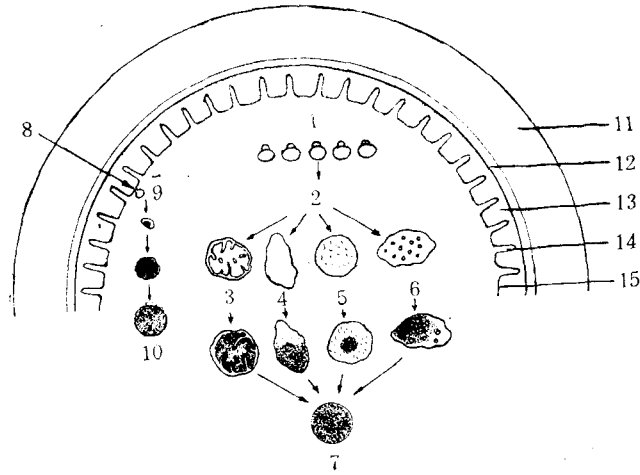
#### (三) 与多泡小体的关系

中国鲎卵子中有一小部分的卵黄粒由多泡小体演化而来。在卵黄发生前的卵母细胞质中,含有一些属于次级溶酶体的多泡小体(图版 II: 17-MVB)。它们在卵黄发生期间也参与卵黄粒的形成。卵黄粒这种形成方式, Dumont 和 Anderson 在美洲鲎的研究中也没有提及。Busson-Mabillot 对鲑鱼的研究中利用带阴离子的铁蛋白注射到鲑鱼的卵母细胞,观察到这些铁蛋白在多泡小体中沉积形成卵黄粒过程,为卵黄粒这种形成方式提供有力的证据<sup>[7]</sup>。

#### (四) 与质膜的微吞饮活动的关系

通过微吞饮作用形成卵黄粒方式的生物有许多种类。如,美洲鲎、蟑螂、蜷蛄、淡水贻贝,两栖类,附着的被囊类等微吞饮作用在卵黄粒的形成过程中起着主要的作用<sup>[8]</sup>。近年来汪德耀、林加涵、王德海等,分别在僧帽牡蛎、文昌鱼等的卵母细胞中也观察到类似中国鲎通过多种方式形成卵黄粒的过程<sup>[1,2]</sup>。

在鲎卵子发育过程中,从早期卵母细胞到卵子达到最终体积时,总体积增长了  $7 \times 10^5$  倍。在短时期内,细胞形成并积累了大量的卵黄粒。如果所需要的蛋白质完全依靠卵母细胞自己合成,那是不可想象的,它可能还有一个细胞外的来源。质膜微吞饮活动可能就是细胞吞饮细胞外来源的蛋白质,在细胞内形成卵黄粒的一种相当重要的方式。



中国鲎卵黄粒形成与细胞器代谢活动关系图

1.核糖体； 2.合成的蛋白质； 3.线粒体； 4.内质网； 5.高尔基液泡； 6.多泡小体； 7.卵蛋粒； 8.来源于肝脏的卵黄蛋白； 9.微吞饮泡； 10.卵黄粒； 11.卵胶膜； 12.基膜； 13.卵黄膜； 14.微绒毛； 15.质膜。

外源蛋白质要进入卵母细胞，必然涉及血淋巴循环中的卵黄蛋白如何接近卵母细胞的问题。在鲎和其它无脊椎动物中，所遇到的第一个障碍是基膜。基膜在各种动物中，结构基本相似，虽然它的厚度变化相当大。Telfer 等利用荧光标记抗体曾经证明，在蚕蛾 (*Cecropia*) 的卵母细胞中，基膜能让蛋白质透过<sup>[13]</sup>。

一旦蛋白质分子通过基膜，它们接下去就是与微绒毛和卵黄膜的顶端相遇。在这里所遇到的阻力很小。蛋白质一部分由微绒毛直接吸收，进入细胞中，作为卵黄粒的原料<sup>1</sup>；另一部分通过质膜微吞饮活动，形成卵黄粒。

无脊椎动物中，卵黄蛋白在卵母细胞外什么位置合成尚有争议：Roth 和 Porter 根据对蚊子所作的研究认为，卵黄蛋白很可能在中肠合成<sup>[14]</sup>；而 Brachet 则认为，大多数(如果不是全部的话)卵黄蛋白来源于雌体的肝脏<sup>[5]</sup>。鲎在卵母细胞卵黄粒尚未大量形成前，肝脏极为发达，与卵巢小管紧密结合在一起，充满整个体腔；而当卵母细胞形成并积累大量卵黄粒，整个体腔为卵子所占据时，肝脏极度退化萎缩：这暗示鲎从卵母细胞外吸收的卵黄蛋白，可能是由肝脏合成的。

另外，鲎的卵子不象其它具有营养细胞和滤泡细胞的种类那样，卵母细胞发育过程所需要的营养物质可以由营养细胞或滤泡细胞提供。因此，没有滤泡细胞的鲎卵母细胞，其发育过程，肝脏作为外源蛋白质的来源就显得更有可能。

关于卵黄粒形成的方式问题，特别要指出的是，卵母细胞中卵黄粒形成的时间和位置，不一定和卵黄蛋白合成的时间和空间相吻合。卵黄粒的形成，仅代表着已合成的原先以溶解的形式存在于细胞中的蛋白质的浓缩和加工的过程。根据不同情况，不同的细胞器和细胞组分，在同一个卵母细胞中可以先后起浓缩中心的作用和作为沉积的场所，这是可以理解的。

综上所述,中国鲎卵黄粒的形成与细胞器的关系可用上页图表示。

### 参 考 文 献

- [1] 汪德耀,王德海,1983。文昌鱼卵母细胞超微结构的研究。中国细胞生物学学会论文摘要汇编。中国细胞生物学会,163—164页。
- [2] 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。
- [3] 洪水根,汪德耀,1986。中国鲎卵膜发生的研究。厦门大学学报(自然科学版) **25**(2): 233—238。
- [4] 蔡心一等,1984。中国鲎的生殖习性和早期胚胎发育。海洋学报 **6**(5): 663—671。
- [5] 布拉舍,J.,1974。分子胚胎学引论。傅文庆译,汪德耀校,1981。科学出版社,41—58页。
- [6] 瑞温,C.,1961。卵子发生。李汝祺等译,1965。科学出版社,78—83页。
- [7] Busson-Mabillot, S., 1984. Endosome transfer yolk proteins to lysosomes in the vitellogenic oocyte of the trout. *Biol. Cell.* **51**: 53—66.
- [8] Dumont, J., et al., 1967. Vitellogenesis in the horseshoe crab, *Limulus polyphemus*. *J. Microscopie* **6**: 791—806.
- [9] Favard, P., et al., 1958. Origine et ultrastructure de plaquettes vitelline de la planorbe. *Arch. Anat. Micr. Morph. Exp.* **47**: 211.
- [10] Gardiner, M. S., 1927. Oogenesis in *Limulus polyphemus*, with special reference to the behavior of the nucleolus. *J. Morph. Physiol.* **44**: 217—265.
- [11] Roth, T. F., et al., 1964. Yolk protein uptake in the oocyte of the mosquito *Aedes aegypti*. *L. J. Cell. Biol.* **20**: 313—332.
- [12] Sekiguchi, K., 1960. Embryonic development of the horseshoe crab studied vital staining. *Bull. Mar. Biol. Sta. Asemushi Tohoku Univ.* **10**: 161—164.
- [13] Telfer, W. H., et al., 1963. The mechanism of blood protein uptake by insect oocyte. *Amer. Zoologist* **3**: 185—191.

## VITELLOGENESIS IN *TACHYPLEUS TRIDENTATUS* LEACH

Hong Shuigen and Wang Deyao

(Institute of Cell Biology, Xiamen University)

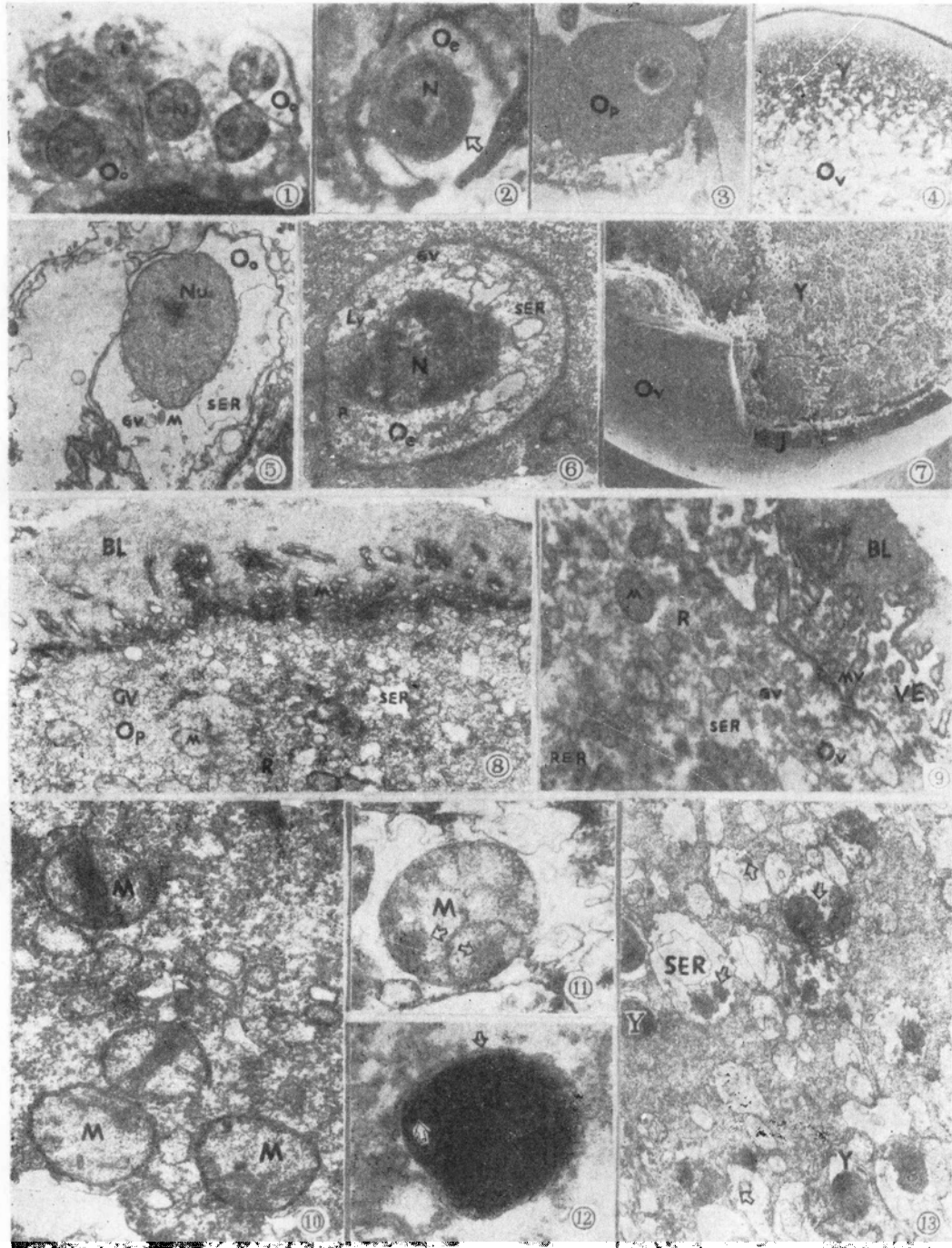
### ABSTRACT

Using microscopy and electron microscopy vitellogenesis in *Tachypleus tridentatus* Leach has been investigated. Oogenesis was described briefly and the ways of the formation of yolk granules were explored.

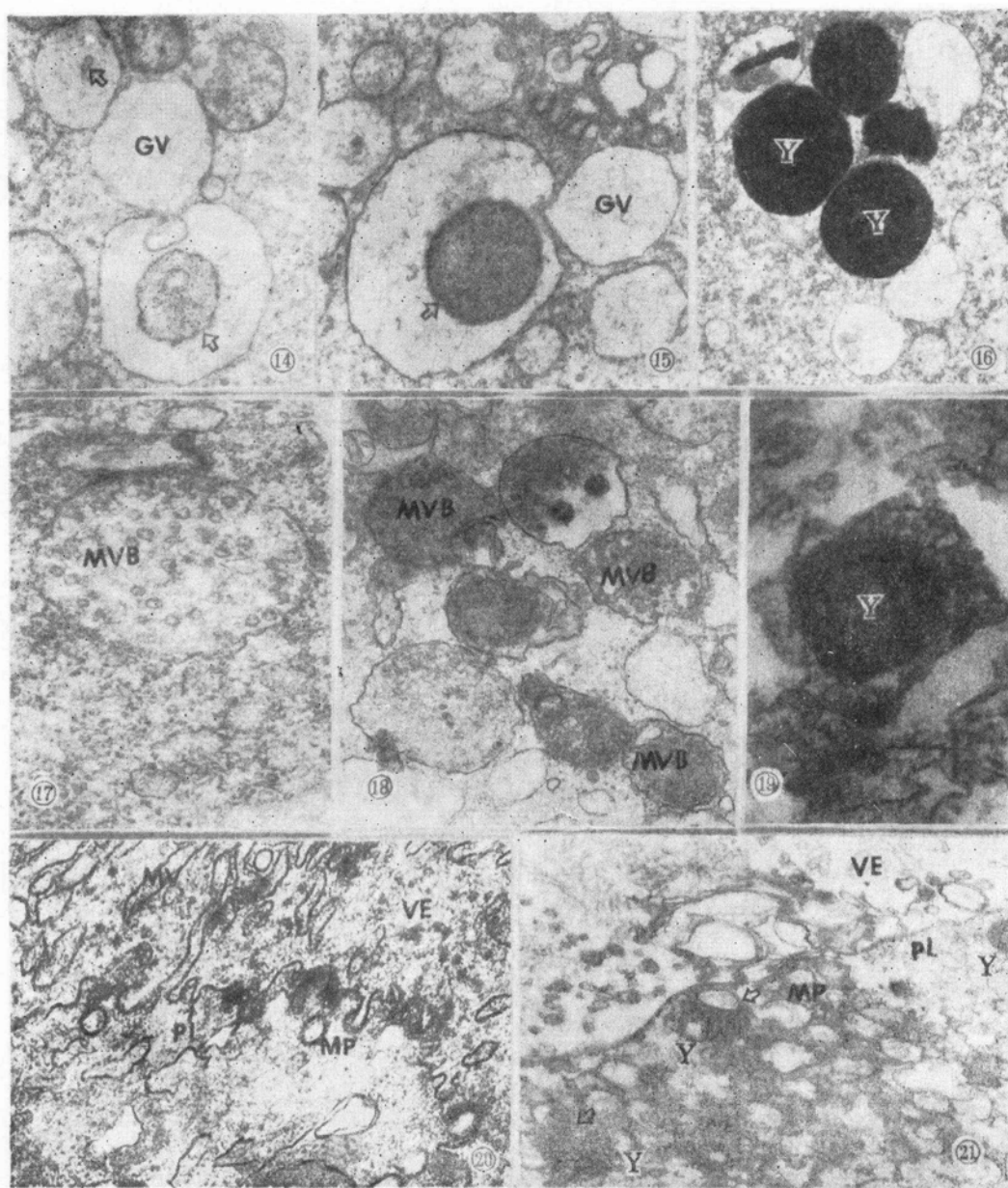
Oogenesis in *Tachypleus tridentatus* Leach is divided into four stages: oogonia, early oocytes, provitellogenic oocytes and vitellogenic oocytes.

Yolk granules were appeared at stage of the vitellogenic oocytes. It has been found that five cell parts, i.e. mitochondria, SER vesicles, Golgi vesicles, multivesicular bodies and micropinocytotic vesicles, may be involved in the formation of yolk granules.

The relationship between the formation of yolk granules and metabolism of organelles was discussed and the differentiation of the vitellogenesis between *Tachypleus tridentatus* Leach and *Limulus polyphemus* Linnaeus was compared.



1. 卵原细胞, H·E 染色,  $\times 946$ ; 2. 早期卵母细胞, H·E 染色,  $\times 946$ ; 3. 卵黄发生前的卵母细胞, 汞溴酚蓝染色,  $\times 151$ ; 4. 卵黄发生的卵母细胞, PAS 反应,  $\times 155$ ; 5. 卵原细胞电镜照片,  $\times 3200$ ; 6. 早期卵母细胞电镜照片,  $\times 6600$ ; 7. 成熟卵扫描电镜照片,  $\times 65$ ; 8. 卵黄发生前的卵母细胞,  $\times 7500$ ; 9. 卵黄发生的卵母细胞,  $\times 15000$ ; 10, 11, 12. 示线粒体演变为卵黄粒的过程,  $\times 35000$ ,  $\times 65000$ ,  $\times 72000$ ; 13. 示卵黄粒在平滑内质网形成的过程,  $\times 7000$ 。



14,15,16. 示卵黄粒在高尔基液泡形成的过程,  $\times 20000$ ,  $\times 27000$ ,  $\times 10500$ ; 17, 18, 19. 示卵黄粒在多泡小体沉积的过程,  $\times 50750$ ,  $\times 22870$ ,  $\times 52900$ ; 20, 21. 示微吞饮活动与卵黄粒形成的关系,  $\times 19600$ ,  $\times 19000$ 。

符号意义: Ly, 溶酶体; MV, 微绒毛; N, 细胞核; Nu, 核仁; PL, 质膜; R, 核糖体; RER, 粗糙内质网; SER, 平滑内质网。其余均见文中说明。