

草鱼卵母细胞中卵黄发生的研究

林光华 张丰旺 翁世骢

(江西大学生物系)

鱼类卵母细胞中卵黄的发生与形成不单纯是内部物质的转化，而且与亲鱼本身的系统发育及生理代谢活动密切相关。关于鱼类卵黄发生的工作已经累集了一些资料，如朱洪文等(1963)、余先觉(1963)、雅玛茉托(Yamamoto 1956)、安德逊(Anderson 1964)以及麦伦(Malone

1963)等，但由于研究材料与实验方法不同，报道颇不一致，有关草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)卵母细胞中卵黄的发生，资料尚少，为此，笔者进行了这一研究，提供了初浅的资料。

* 本文照片由谢继锋同志拍摄，致谢。

材料与方法

自1975年至1980年，从江西省境内的池塘、内湖与中型水库中，对第一次性周期内不同发育年龄的雌性草鱼77尾（其中一龄23尾，二龄20尾，三龄14尾，四龄20尾）的卵巢进行活体取材，取材是分春、冬两次进行的，剖出卵巢分前、中、后三段，每段取小块组织分别固定于（1）Bouin液、（2）Carnoy液、（3）Da Fano液以及（4）Regard液中，按各自的程序制成4—6微米的切片，分别用H.E.；Heidenhain苏木紫、Regard苏木紫等染色以及用硝酸银浸镀。采用PAS法（作了对照）检验卵母细胞发育中多糖类的变化。用Feulgen反应检验DNA的变化，并对拟观察的切片材料进行了观察、测量和部分地进行了显微摄影。

结 果

一、卵母细胞在卵黄颗粒形成前的形态变化 在1时相卵母细胞中，未见到与卵黄发生有任何关系的形态变化迹象，只是胞核内染色质较为密集，核仁1—2个，折光性较强。

在春季取材的卵巢切片中，无论是2、3、4龄草鱼，2时相卵母细胞皆会发生明显的形态学变化，即在卵核旁形成卵黄核（又称核旁体），其大小为5—8微米，早期为圆球形（图1见封2，下同）。在用Regard苏木紫染色的切片中，卵黄核中的部分物质呈深紫色，有线粒体夹杂分布，在硝酸银浸镀的切片中，卵黄核本体部具有无数均匀分布的嗜银性颗粒，其外周围绕着椭圆形或圆球形（图2）的网状分布的嗜银性颗粒物质（大部分为高尔基体的切面）。这说明线粒体与高尔基氏体参予了卵黄核的形成与变化。随着细胞的发育生长，嗜银性物质向细胞核两侧包围，从绕卵黄核分布而至围绕卵核而分布，再发展到整个细胞质中以至边周均有分布。随着卵母细胞所处的发育时期不同，其分布范围及数量均有所区别。

卵黄核紧靠胞核或与之保持一定的距离，其周围存在一定腔隙，在腔隙中有时可见到围

绕其分布的呈辐管状物质，亦可见到排出的核仁，还可看到略膨大的卵黄核及其周围胞质部分与胞核之间有“鸿沟”相通连（图3）。随着卵母细胞的发育，卵黄核及其周围物质发生注目的代谢变化，首先，卵黄核周围深紫色物质堆积，其外周形成不规则腔隙，腔隙不断扩大（图4），形成网状支架，卵黄核的强嗜碱性团块物质则分散于网架上，上述变化逐渐扩及整个细胞。随后，其间隙又为重新形成的细胞质所充满。

用PAS法检验，卵黄核呈阴性。在Feulgen反应中也显阴性。

二、卵黄颗粒形成前核仁的变化 卵黄形成前夕，核仁变化较明显，开始核仁分散分布于核中，后移至核边周区核膜的内方，可见到3—12个核仁，其中一至数颗成环状，有时也可见到一个切面上全为环状核仁所占据（图5），环状核仁结构不太致密，其靠核膜一侧完全与其吻合。同时，还发现有核仁排出现象（图6）。核仁排出核外，是卵黄泡形成的前奏，因为在发现排出的核仁后，相继在胞质中便会出现最早的卵黄泡。

三、卵黄颗粒的形成过程 细致观察77号材料的切片表明：卵黄颗粒的形成可分成下列连续发生的三个阶段：（一）卵黄泡的形成；（二）卵黄颗粒的生成；（三）卵黄颗粒的增长与并合。

（一）卵黄泡的形成 2时相卵母细胞在经历卵黄核变化以后，线粒体和高尔基氏体在细胞边周部分分布较为丰富，嗜碱性团块物质分布也较为丰富，当其开始发育成3时相卵母细胞时，便有卵黄泡的出现，卵黄泡首先在胞质中形成，然后向边周移动，最早是单个出现，以后形成一层且紧靠细胞边周而配列。卵黄泡续后由边周向中央不断增多，由一层发展成二层乃至多层，当卵径达220微米时，卵黄泡充满整个细胞（仅核例外）。泡内充满了细粒状物质（在Heidenhain苏木紫染片中显浅紫红色）。泡间的胞质显深紫色。核膜开始曲皱，表面凹凸不平，核仁数目增多，为46—87个不等，核仁个体较小，质地致密，其分布明显分为两组，一组

(约30—50个)分布于核膜内方,一组(约20个—35个)则集中于核的几何中心位置(图7),在显示线粒体的切片中,在卵黄泡与卵黄膜之间,卵黄泡之间,均有较多的线粒体分布(图8)。在硝酸银浸染的染片中,在上述地区则有大量的嗜银性物质(大部分为高尔基体的切面)分布。

用PAS法检验,卵黄泡随发育时期不同而有不同的反应。刚形成一层时的卵黄泡呈强的阳性反应,当发育成多层时,则仅靠卵黄膜的1—2层呈阳性反应,其余则显阴性反应。

(二) 卵黄颗粒的形成 当卵母细胞发育到3时相后期,细胞质中有多层卵黄泡分布时开始形成卵黄颗粒,最早卵黄颗粒是在紧靠卵黄膜的卵黄泡间形成的,刚形成的卵黄颗粒比较细小。由于卵黄泡一个紧挨一个,而酿造卵黄的活动几乎全是在紧靠卵黄泡壁的泡间进行(图10)。在新生的卵黄颗粒之间可看到短杆状和粒状的线粒体和嗜银性物质分布(图11),PAS法检验,卵黄颗粒显阳性。随着卵母细胞的增长,卵黄颗粒数量越来越多,最早产生的逐步增长或相互并合而形成较大的卵黄颗粒,同时,新的又在形成,因而,在切片上可看到它的过渡形态(图12)。

(三) 卵黄颗粒充塞全卵 当卵母细胞由3时相发育到4时相过程中,卵黄泡自核周向细胞边周逐渐减少层次,最后仅留边周一层。而卵黄颗粒则由边周向核周区扩展以致充塞全卵。此时,可见到卵黄颗粒明显分为两种形态,大的形态规则,在切片上表现边缘整齐,呈椭圆形或圆形,直径为9—11微米。小的多呈圆球形,直径为2—3微米。在晚期卵母细胞中,由于新生卵黄活动停止,而所有的细小颗粒均已增长或并合,因而,在切片上几乎看不到小的卵黄颗粒。

当卵母细胞发育进入4时相后期(平均卵径为911微米)时,细胞核出现不规则变化,呈中凸圆盘状,椭圆形乃至新月形且开始向动物性极偏移,核膜皱折,核向胞质中形成树状突起,突起终末界线欠清晰,核仁分布仍呈分组现象,此时,仅在卵母细胞植物性半球的大半圈的

边周上具有单层的卵黄泡(有人称为皮质泡)。同时,整个卵母细胞充塞卵黄,卵黄颗粒的形成即告终止。

讨 论

卵黄核(yolk nucleus)是多种动物卵母细胞早期发育中常见到的结构,对其化学组成曾有过雷文(Raven 1961)的报告,指出其为核糖、核蛋白的复合体,其中富含RNA。有人认为其中还含有粘多糖,据笔者对草鱼卵母细胞上进行PAS法检验,未见其有阳性反应。关于卵黄核与卵黄发生的关系,据作者观察:草鱼早期卵母细胞中的卵黄核发生一系列有规律的变化,线粒体与高尔基氏体参与其变化,组成卵黄核的嗜碱性团块物质(Beams等1962年在龙虾卵母细胞中,认为大部分为内质网的粗面膜且论断其与卵黄形成有关)分布细胞中胞质所形成的网架上,以后,参与胞质的重新形成,嗜碱性显色反应较前有所减弱。接着,就在此胞质中出现卵黄泡,在卵黄泡壁上,又由于有线粒体、高尔基体以及嗜碱性团块物质的参加下酿造卵黄颗粒,因此,有理由推断:卵黄核的形成与变化促使卵母细胞的胞质结构发生适应于酿造卵黄颗粒的变化,为卵黄发生提供了酿造的亚显微的结构基础。

核仁的注目变化是否与卵黄发生有关,曾有过一些报道,关于核仁外溢在其他鱼卵母细胞中也可以见到(Yamamoto 1956)。作者在草鱼卵母细胞中2时相末、3时相末和4时相初所观察到核仁的变化:包括早期环状核仁的出现、核仁外溢、以后的核仁数目剧增和沿核膜内侧配列等现象,就可看到,核仁参与了卵黄核嗜碱性团块物质的合成并在续后的卵黄合成中起作用。因而,核仁在合成酿造卵黄的亚显微结构(主要是粗面内质网)的物质上和继后的合成卵黄颗粒中有作用应该是比较肯定的。

根据Raven(1961),朱洪文(1963)和余先觉(1964)在鲫和泥鳅卵上所观察到卵黄发生和笔者在草鱼卵母细胞上所观察的卵黄泡的形成与演化、卵黄颗粒形成地点与增多等方面基本

相似，而作者在草鱼卵母细胞上观察到卵黄颗粒形成之前，其内部所发生的一系列规律变化，更能较为系统地观察到卵黄发生的顺序，为深入研究提供了初步的资料。笔者的观察还证实了，在草鱼卵母细胞中，当发育到3时相后期，卵母细胞边周卵黄泡泡壁上，泡壁与卵黄膜之间以及泡间等处都是卵黄颗粒合成的主要场所，这些地方也是线粒体，嗜碱性团块物质，嗜银性物质(包括高尔基体)密集的地方。由此可以推断：进入卵黄膜的原料物质可能是先被聚集在卵黄泡中，然后被输送到上述场所酿造卵黄。此外，在草鱼卵母细胞中，没有发现有泡内卵黄的形成。

参 考 文 献

[1] 朱洪文 李新人 1963 鲫鱼卵发生过程中细胞学和

细胞化学的研究。动物学报 15(3): 348.

[2] 余先觉 1964 泥鳅卵黄发生的研究。武汉大学学报 1964. 83—96.

[3] Anderson E. 1964 Oocyte deffrentiation and vitellogenesis in the roach *periplanete americana*. *J. Cell Biol.* 20(1): 131.

[4] Beams H. W. and Kessel R. G. 1963 Electron microscope studies on developing crayfish oocytes with specical reference to the origin of yolk. *J. Cell Biol.* 18(3): 621.

[5] Malone T. E. and K. K. Hisaoka 1963 A histochemical study of the formation of dentoplasmic components in developing oocytes of the zebrafish, *Brachy danio rerio*. *J. morphol.* 112 (1): 61.

[6] Yamamoto K. 1956 Studies on the formation of fish eggs VII. The fate of the yolk vesicles in the oocytes of the herring, *clupea pallasii*, during vitellogenesis. *Annot. Zool.* 29(2): 91.

《草鱼卵母细胞中卵黄发生的研究》

一文之附图 (正文见第 1 页)

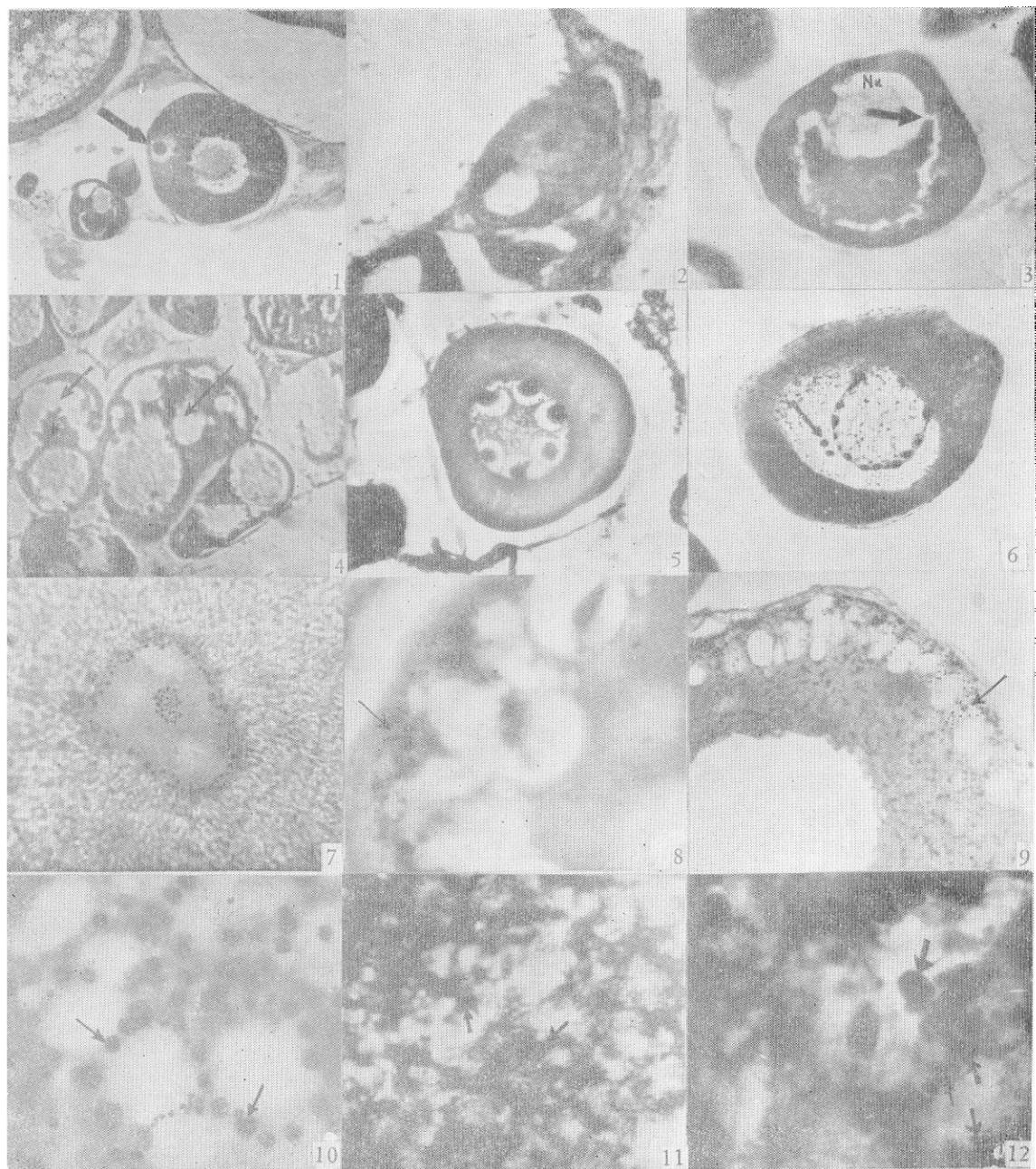


图 1 2 时相卵母细胞, 示圆球形卵黄核 (450 \times); 图 2 2 时相卵母细胞, 示卵黄核外周嗜银性网状结构 (300 \times); 图 3 2 时相卵母细胞, 示细胞核与卵黄核之间裂隙 (570 \times); 图 4 示卵黄核中腔隙已经扩大 (300 \times); 图 5 示全部核仁成环状 (570 \times); 图 6 示核仁排出核外 (430 \times); 图 7 示核仁分组分布现象 (150 \times); 图 8 示卵黄泡与卵黄膜之间的线粒体分布 (1000 \times); 图 9 示卵黄泡与卵黄膜之间嗜银性物质的分布 (570 \times); 图 10 示卵黄颗粒出现于卵黄泡之间 (300 \times); 图 11 示卵黄泡 (未显色部分) 间嗜银性物质的分布 (150 \times); 图 12 示大、中、小不同大小的卵黄颗粒 (570 \times)。