

拟穴青蟹受精膜形成过程中线粒体的变化及功能

陈锦民^{1,2}, 李少菁^{2*}, 王桂忠², 叶海辉², 王艺磊¹

(1.集美大学水产学院,水产科学技术与食品安全省高校重点实验室,福建 厦门 361021;

2.厦门大学海洋与环境学院,福建 厦门 361005)

摘要:采用透射电子显微镜研究了拟穴青蟹受精膜形成过程中线粒体的变化及其功能。结果显示,大量线粒体首先高度密集于即将发生胞吐的皮质中;随着胞吐的发生,线粒体也随之快速分散到皮层反应部位,线粒体通过分裂、出芽等方式而迅速增多,内质中的线粒体大量向皮质迁移,参与皮层反应;当受精膜开始举起时,线粒体多聚集在新质膜下,参与新质膜的修复和形成;受精膜完全举起后,皮质中的线粒体迅速减少。线粒体在形态、数量及分布等方面的变化,能够反映受精膜形成不同阶段生理活动的旺盛程度以及需能情况,并从细胞水平阐释受精膜形成机制。

关键词:拟穴青蟹;受精膜;线粒体;皮层反应

中图分类号:S 917.4

文献标志码:A

线粒体是细胞的“能量工厂”,氧化磷酸化产生三磷酸腺苷,为细胞进行各种生命活动提供能量,包括了生殖细胞的发生、成熟、受精及卵裂等。以往研究表明,在甲壳动物生殖细胞中线粒体具有多方面的生物学功能,线粒体除了直接提供能量,还参与了精子顶体和卵子卵黄颗粒的形成。但是学者们的研究只集中于线粒体在精子发生^[1-2]、卵母细胞发生^[3]和卵黄发生^[4-5]过程中的变化情况及其功能,迄今为止还未见线粒体在甲壳动物受精过程中的相关研究报道。

拟穴青蟹(*Scylla paramamosain*),俗称青蟹,是重要的海洋经济蟹类。康现江等^[6]曾对其受精卵皮层反应与受精膜(fertilization membrane, Fm)形成进行了报道,本研究进一步探讨皮层反应过程中,线粒体形态、数目、分布及其功能等变化情况,以期从细胞水平更深入地探讨青蟹 Fm 形成的机制,丰富十足目甲壳动物受精生物学内容。

1 材料与方法

1.1 实验材料

2002年3—7月和2003年3—7月,从厦门市

厦港农贸市场购买母蟹,体长8.0~10.0 cm,体宽10.0~12.0 cm,体质量300~380 g。剪去母蟹一侧眼柄诱导产卵,暂养于水泥培育池(2.0 m×1.5 m×1.5 m),水位1 m,池底部铺有2~4 cm细砂。充气泵用节电开关控制充气,水温为25.5~29.0℃,盐度为25.5~26.5,每日喂菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinensis*)。

1.2 取样处理

待亲蟹产卵时,从排卵孔附近取受精卵放入预先准备好的烧杯中,间隔30~60 s取样观察和固定处理。取数个卵置于载玻片上,用连于Olympus-II显微镜的数码图像采集器DN-CAM进行活体观察和拍照。取数个卵于2.5%戊二醛和1%锇酸双重固定,酒精系列脱水,环氧树脂618包埋,切片于柠檬酸铀—醋酸铅双重染色, JEM-100CX透射电镜观察拍照。

2 结果

精子入卵后,皮层反应从精子入卵处开始,并迅速波及整个卵子。首先是卵子皮质中的致密颗粒的胞吐,接着环形颗粒(the ring-shaped

收稿日期:2011-01-04 修回日期:2011-06-01

资助项目:国家“八六三”高技术研究发展计划(2002AA603013);国家自然科学基金项目(31072200);福建省科技厅高校专项基金(2008F5039);福建省高校水产科学技术与食品安全重点实验室开放基金(2008J101);集美大学博士科研启动基金(C60609)

通讯作者:李少菁, E-mail: zoopecol@xmu.edu.cn

<http://www.sxuebao.cn>

granules, Rg) 爆发性地胞吐, 使得受精膜(Fm) 的厚度由 0.05 μm 增至 0.15 μm 。紧接着 Rg 进入下一轮的胞吐。Rg 的胞吐全过程划分为 3 个阶段: Fm 形成的平缓期、增厚期和举起期, 线粒体始终是最常见的细胞器, 不仅数量多, 并且呈现明显的规律性变化。

2.1 受精膜形成的平缓期 (the placid phase of Fm forming)

此阶段, 原先形成的受精膜与新质膜基本紧挨, 它们间的卵周隙内仍有少量残留的指状突起。皮质中分布着稀疏的卵黄絮状物质, 出现多处电子密度低的空白区域, 有的空白区域充满了溶解了的脂肪液, 仍见少量正在溶解的大小脂滴。在即将发生胞吐的皮质部位, 出现众多具有典型结构的线粒体群, 大量线粒体密集聚集在一处, 线粒体内嵴丰富, 基质中充满絮状物质, 电子密度与外周的絮状物质以及 Rg 一样。线粒体多数呈椭圆形或卵圆形, 直径 0.3 ~ 1.0 μm 。有的线粒体正在出芽, 有的可能正在参与新的 Rg 的形成(图版 I-1)。此外, 还发现了一大线粒体, 呈哑铃形, 长约 1.25 μm , 已经移到质膜旁边, 中间凹陷似正在分裂, 而且两头嵴的形状与电子密度不相同(图版 I-2)。

2.2 受精膜形成的增厚期 (the thickening phase of Fm forming)

随后, 新形成的 Rg 移到卵周围, 开始了又一轮的胞吐。内质中的两种卵黄颗粒以及脂滴, 常伴随着大量的线粒体以及新形成的 Rg, 迅速地迁移到皮质参与皮层反应。皮质中卵黄颗粒大量分解成絮状物质扩散在细胞质中, 脂滴分解成小脂滴而快速溶解成脂肪液, 许多絮状物质黏附于正在溶解的大小脂滴四周; 卵黄和脂滴的溶解物质参与合成 Rg, 并常见很多线粒体分布四周。来自于皮质以及从内质迁移过来的大量 Rg 连续性胞吐, 不仅将环形颗粒内含物直接胞吐出质膜, 而且带来质膜形成的许多指状突起断裂进入卵周隙, 使得卵周隙迅速膨胀而变宽(图版 I-3, 4)。此阶段 Rg 的胞吐不仅数量大, 而且具有爆发性, 卵周皮层代谢活动极其旺盛, 大量线粒体散布其间, 并且许多线粒体从靠近皮质的内质迁移到皮层提供能量。线粒体的体积较小, 直径 0.3 ~ 0.6 μm 。发现大线粒体正在一分为二, 较大的线粒体形态结构典型, 呈椭圆形; 嵴发达, 较清晰; 基质充满电

子密度高的似卵黄絮状物质(图版 I-3)。体积较小的线粒体多呈圆形, 因基质充满而使嵴显得模糊不清, 基质电子密度与周围絮状物质相近(图版 I-4)。

2.3 受精膜的举起期 (the swelling of Fm)

Rg 经过剧烈胞吐之后逐渐趋于缓和, 新质膜越加平滑, 其上的指状突起变少; 卵周隙中 Rg 的内含物和指状突起电子密度变低, 不断溶解并黏附于 Fm, 使其增厚并开始举起; 随着 Fm 的举起, 卵周隙中的物质减少并逐渐变宽(图版 I-5 ~ 7)。靠近卵周的皮质中未见低电子密度卵黄颗粒, 大量高电子密度卵黄颗粒四围仍在分解成絮状物质和膜状结构, 许多脂滴正在溶解, 脂肪液充斥在空白区域, 许多大小不一的线粒体分布其中, 共同参与新质膜的形成和修复, 少量 Rg 仍在形成(图版 I-8 ~ 图版 II-11)。此阶段线粒体正在大量增殖, 出现两种特征的类型。I 型为不成熟线粒体, 其内外膜和嵴的结构不明显, 整个线粒体充满似卵黄絮状物质, 像似圆形卵黄颗粒, 线粒体的形态结构不够典型(图版 I-8)。此种颗粒可称为“卵黄粒型线粒体”, 主要来源于高电子密度卵黄颗粒, 是一种不够成熟成型的新生线粒体(图版 II-9, 10)。II 型为成熟线粒体, 其内膜和嵴的结构明显, 外膜光滑, 基质充满电子密度高的似卵黄絮状物质, 线粒体的形态结构典型, 呈圆形或卵圆形(图版 II-10, 11), 其中有的中部缢缩并向两端拉长, 整个线粒体约呈哑铃形, 最后分开成为两个独立的线粒体(图版 II-9), 此种典型成熟的线粒体往往比 I 型线粒体大, 并常靠近卵周参与新质膜的形成与修复。此时, 靠近皮质的内质中正在溶解的高电子密度卵黄颗粒和脂滴之间分布大量典型线粒体, 其内膜和嵴的结构明显, 外膜光滑并有膨胀举起之现象(图版 II-12), 有的出现球形小芽与母体分离, 不断长大而形成新的线粒体(图版 II-13), 有的正在分裂增殖成两个独立的线粒体(图版 II-14)。Fm 举起初期, 线粒体的形态结构特点以及分裂和出芽现象表明其处在增殖状态, 呼吸代谢旺盛, 主要起提供能量和参与新质膜的形成和修复。

随后卵周隙内的内含物都基本溶解, 并与原先的 Fm 愈合, Fm 完全举起, 卵周隙增厚, 已形成的新质膜表面平滑, 此时皮质中分布着絮状物质、卵黄颗粒和脂滴, 线粒体迅速减少, 已不常见(图

版 II-16)。

3 讨论

3.1 受精膜形成过程中线粒体的增殖和分布的变化

线粒体,被称为半自主性细胞器(semiautonomous organelle),其生长和增殖是受核基因及其自身的基因组两套遗传系统的控制。在细胞发育过程中,线粒体也随之生长,膜表面积增加,基质蛋白质增多,以及线粒体 DNA 进行复制,然后线粒体再分裂^[7]。在青蟹 Fm 形成过程中,如此之多的线粒体集中分布在卵周皮层中,它们除来源于成熟卵子时期本身已具备的,还可能在皮层反应期间又快速新生成很多线粒体,从而为爆发性的胞吐提供足够的能量。

从观察的结果看,线粒体的增殖主要是由原先结构典型的成熟线粒体分裂或出芽而来。分裂方式主要有 3 种:间壁分离、收缩分离和出芽;其中常见的是出芽的方式,成熟线粒体的一端挤出一个芽,随后脱离母体成为膜状结构(称为线粒体的原始状态),然后从细胞质基质中吸收一些蛋白质等原料而生长变大成新的线粒体。此外,在青蟹皮层反应过程中还发现线粒体大量增殖的另一途径:由卵黄絮状物质和脂滴直接合成“卵黄粒型线粒体”,即 I 型不成熟线粒体,属于不够成形的新生线粒体,形态结构不够典型。但是 I 型线粒体会迅速成长为 II 型成熟线粒体,内外膜和嵴的结构变得明显,形态结构典型。从两种类型线粒体的形态结构特点,特别是内膜和嵴的特征,我们可以判断 I 型线粒体的代谢活动比 II 型成熟线粒体弱。因为内膜向线粒体内室折叠形成嵴(cristae),使内膜的表面积大大扩增,对线粒体进行高速率的生化反应是极为重要的。而线粒体嵴被认为是氧化磷酸化的主要场所,嵴越丰富,呼吸代谢越强^[1]。青蟹皮层反应中线粒体的再生与复制是个极其复杂的过程,可能存在至少两种机理:一种属于自我复制,线粒体本身的 DNA 和 RNA 通过分裂或芽生的机理指导它们的复制;另一种属于受核基因指导的复制,高电子密度卵黄形成“卵黄粒型线粒体”属于此种情况,而在卵黄发生过程常存在线粒体直接转变为卵黄粒的现象,类似合成“卵黄粒型线粒体”的逆过程,卵黄粒与线粒体两者之间相互转化的两套机制有

待进一步深入研究。线粒体增殖过程中,卵黄溶解的絮状物质和脂肪液为线粒体的合成和生长提供原料,这与线粒体的生化组成相一致^[7]。

线粒体是一种高效地将有机物转换为细胞生命活动的直接能源 ATP 的细胞器,也是糖、脂肪和氨基酸最终氧化释放能量的场所,产生 95% 以上的细胞能量^[7]。在青蟹皮层反应过程中,需能部位常见到的是结构典型的成熟线粒体,一方面为 Rg 的合成和胞吐提供能量,另一方面参与了新质膜的修复和形成。此外,还在线粒体出芽形成的膜状结构和 I 型不成熟线粒体,根据它们的形态结构可以判断其呼吸代谢较弱,需要经过一个生长成熟过程才能发挥真正的效能。王兰等^[1]认为在长江华溪蟹(*Sinopotamon yangtsekiense*)精子发生中的线粒体衍生物活性不高,而杨万喜^[2]在日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)精子发生过程发现线粒体形成膜状衍生物,认为其与典型线粒体一样地参与细胞的氧化磷酸化过程,为精子的新陈代谢提供能量。关于不同形态线粒体或线粒体衍生物是否仍然具备提供能量的功能,答案众说纷纭。这方面难题的解决可用追踪测定线粒体活性^[1]。

青蟹的一个先行精子质膜与卵质膜愈合之际,卵内突然爆发了皮层反应,皮层颗粒发生胞吐作用,皮层颗粒破裂,其外膜与卵质膜融合,内含物排入卵周隙内,最终导致受精膜的形成。皮层颗粒的胞吐是一个耗能过程,皮层颗粒破裂引发邻近皮层颗粒的爆裂,并迅速波及全卵。在青蟹卵子皮层反应的整个过程中,线粒体始终是数量最多的细胞器,具有多形性、易变性、运动性和适应性等特点,线粒体在数量、形态与分布上呈现一定的变化规律,反映了 Fm 形成过程中细胞代谢的活跃程度和不同生理状态。

在青蟹 Fm 形成过程中,很明显地观察到线粒体可以在细胞质中有规律地移动,并在代谢旺盛的需能部位集中。在皮层反应即将开始的部位线粒体高度密集,线粒体结构典型,嵴丰富,基质中充满絮状物质,说明此部位代谢活动能量需求高,正在积蓄大量能量。在卵母细胞发育过程也有线粒体密集分布的现象,学者们称之为线粒体群或线粒体聚集灶,被认为与物质交换和能量需求有关系^[3]。当青蟹皮层颗粒破裂从这位置开始并迅速波及全卵时,线粒体也随即分散到皮层

反应部位。在胞吐剧烈进行的地方,线粒体比较集中,而且内质中的线粒体也大量向质膜下的皮质迁移,说明此处氧化代谢非常旺盛。在 Fm 举起初期线粒体多聚集在新质膜下,线粒体正在参与新质膜的修复和形成。Fm 完全举起后,皮质中的线粒体迅速减少,且胞吐已完毕,代谢和需能就大大减小。线粒体在青蟹受精卵中不均匀的分布还表现在皮质中的线粒体大大多于内质,因为皮质是皮层反应过程中代谢活动最旺盛的部位。根据细胞代谢的需要,线粒体可在细胞质中运动、变形和分裂增殖,线粒体的这种动态分布有利于提高需能部位 ATP 水平。线粒体在细胞质中迁移被认为是通过微管的作用^[7]。可见,线粒体在细胞质中有规律的移动和局部集中,显然有利于需能部位的能量供应。因此,线粒体的数目、形态以及分布的变化可以较好地反映青蟹 Fm 形成过程的不同阶段细胞内的代谢和能量需求特征。

3.2 线粒体与皮层反应机制

当受精或激动时,皮层颗粒迅速与质膜融合并释放内含物,此现象称为皮层反应。很多学者研究表明,皮层颗粒的胞吐机制与 Ca^{2+} 有关, Ca^{2+} 的升高诱发皮层反应的发生^[8]。VACQUIES^[9]发现皮层颗粒内含有结合的 Ca^{2+} ,每枚皮层颗粒破裂后释放的 Ca^{2+} 都可以引发邻近的皮层颗粒的爆裂。而 DUCIBELLA^[10]研究发现三磷酸肌醇(IP3)与细胞质中贮存 Ca^{2+} 的内质网或钙小体(calcosome)上的 IP3 受体结合,导致内源性 Ca^{2+} 的释放从而引发皮层反应。 Ca^{2+} 释放的过程爆发性地传播至整个卵,因为被释放的 Ca^{2+} 很快被泵回内质网中,所以 Ca^{2+} 波总能以循环的增殖的形式从精子进入点开始,最后穿越至全卵; Ca^{2+} 波引发皮质颗粒的大量胞吐^[11]。一个细胞质中 Ca^{2+} 的升高到底来源于皮层颗粒,还是内质网或钙小体,或是还有其它来源?我们在青蟹皮层反应中却发现大量的线粒体密集,局部集中在即将发生胞吐的皮质中,随着胞吐的发生线粒体迅速扩散分布。所以我们推测青蟹皮质中虽不存在内质网,但线粒体很有可能是细胞质中 Ca^{2+} 浓度升高的一个来源。因为线粒体本身是个 Ca^{2+} 储存器,线粒体的基质中含有上百种酶和其他成分的颗粒,是含磷酸钙的沉积物,其作用是贮存钙离子,也可结合镁离子^[7]。此外,线粒体也是一种可发送和传递 Ca^{2+} 信号的细胞器,通过

快速摄取或释放 Ca^{2+} 而调控细胞的 Ca^{2+} 浓度,从而调节细胞的生理反应;可起到调控细胞质中 Ca^{2+} 浓度的作用^[12-13]。 Ca^{2+} 是细胞能量代谢的重要调节介质。线粒体在调节细胞钙稳态中起重要作用,使细胞保持生理条件下能量生成与利用的平衡^[14]。青蟹皮层反应中线粒体的数量变化以及动态分布与皮层颗粒爆发性胞吐相适应,除了提供能量需求,可能还起到形成和调控 Ca^{2+} 波的作用。氧化磷酸化及蛋白质跨线粒体膜运输是当前最活跃的研究领域,关于线粒体的作用在精卵发生和卵黄发生过程有过报道^[2],但是在受精方面鲜有报道。长毛对虾(*Penaeus penicillatus*)卵子内部在皮层反应前后分布着众多线粒体,与卵子在皮层反应过程及之后的生理活动变化相适应^[15],蜃(*Limulus polyphemus*)胞吐的皮质中也发现大量的线粒体密集的现象^[16],但是上述两个物种中都没有描述线粒体与皮层反应之间的必然联系。在青蟹皮层反应过程中,线粒体在形态、数量及分布等方面的变化,反映了 Fm 形成不同阶段的生理活动的旺盛程度以及需能情况,更好地从细胞水平阐释了 Fm 形成机制。

参考文献:

- [1] 王兰,堵南山,赖伟.长江华溪蟹精子发生过程中线粒体的超微结构研究[J].动物学报,1997,43(2):113-118.
- [2] 杨万喜.日本沼虾三种细胞器在精子发生过程中变化的研究[J].应用与环境生物学报,1998,4(1):49-54.
- [3] 姜叶琴.秀丽白虾卵母细胞不同发育阶段线粒体的变化[J].中国水产科学,2005,12(1):10-12.
- [4] 应雪萍,杨万喜.泥螺卵黄发生过程中线粒体的变化[J].动物学研究,2001,22(5):379-382.
- [5] 上官步敏,刘正琮.缢蛏卵母细胞卵黄发生过程的超微结构研究[J].海洋与湖沼,1995,26(1):48-52.
- [6] 康现江,李少菁,王桂忠,等.锯缘青蟹皮层反应和受精膜形成研究[J].海洋科学,2001,25(1):40-43.
- [7] 翟中和,王喜忠,丁明孝.细胞生物学[M].北京:高等教育出版社,2000.
- [8] 陈大元.受精生物学—受精机制与生殖工程[M].北京:科学出版社,2000.
- [9] VACQUIER V D. The isolation of intact cortical granules from sea urchin eggs: calcium ions trigger granule discharge[J]. Developmental Biology, 1975,

- 43(1):62-74.
- [10] DUCIBELLA T. The cortical reaction and development of activation competence in mammalian oocytes [J]. Human Reprod Update, 1996, 2: 29-42.
- [11] MULLER W A. Developmental biology[M]. 北京: 高等教育出版社, 1998.
- [12] GUNTER T E, GUNTER K K, SHEU S S, *et al.* Mitochondrial calcium transport: physiological and pathological relevance [J]. American Journal of Physiology, 1994, 267(2): 313-319.
- [13] ICHAS F, JOUAVILLE L S, MAZAT J P. Mitochondria are excitable organelles capable of generating and conveying electrical and calcium signals[J]. Cell, 1997, 89: 1145-1153.
- [14] HANSFORD R G, ZOROV D. Role of mitochondrial calcium transport in the control of substrate oxidation [J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 1998, 184(1-2): 359-369.
- [15] 王艺磊, 张子平, 常林, 等. 长毛对虾卵子皮层反应的研究[J]. 动物学报, 2001, 47(1): 112-115.
- [16] BANNON G A, BROWN G G. Vesicle involvement in the egg cortical reaction of the horseshoe crab, *Limulus polyphemus* L [J]. Developmental Biology, 1980, 76(2): 418-427.

The studies on the mechanism of fertilization membrane formation in *Scylla paramamosain* mitochondria and its functions

CHEN Jin-min^{1,2}, LI Shao-jing^{2*}, WANG Gui-zhong², YE Hai-hui², WANG Yi-lei¹

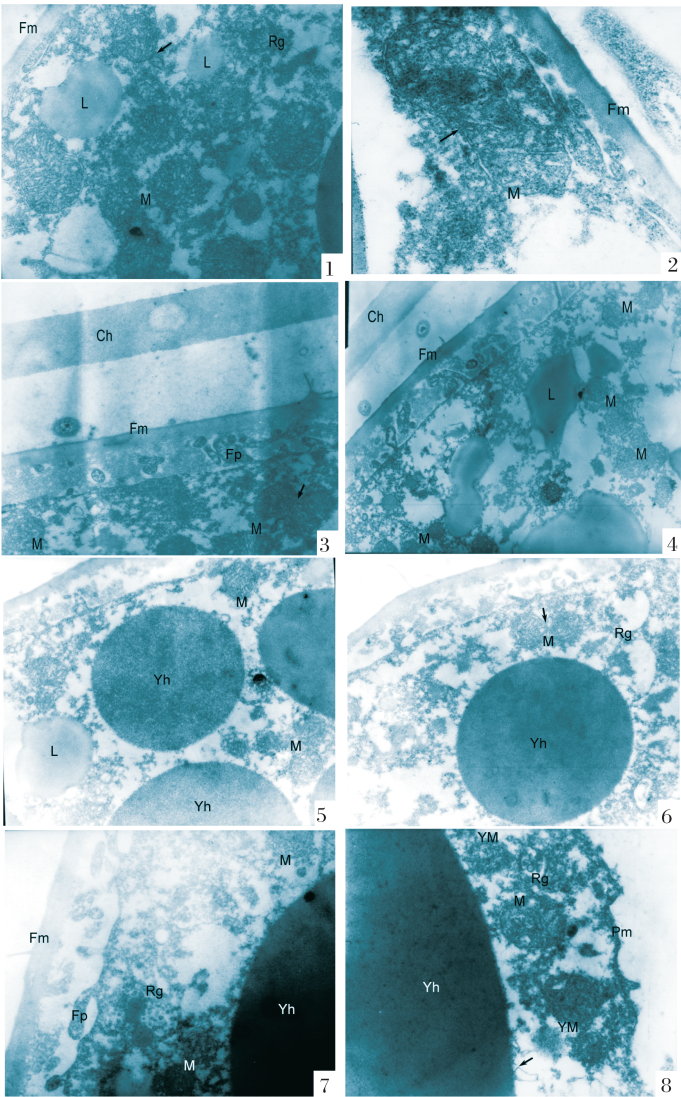
(1. Key Laboratory of Science and Technology for Aquaculture and Food Safety, Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. College of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: The changes and functions of mitochondria during the process of fertilization membrane (Fm) formation in *Scylla paramamosain* were investigated by transmission electron microscope. The results are as follows: Many mitochondria assembled densely at one place in the cortex just before the outburst of the ring-shaped granules. When exocytosis happened, numerous mitochondria scattered rapidly around the cortex where cortical reaction was proceeding. Mitochondria increased dramatically by splitting and budding, meanwhile lots of mitochondria that formed in endoplasm migrated to cortex, as numerous ring-shaped granules involving exocytosis needed abundant energy. While Fm was swelling, most of the mitochondria gathered under the new plasma membrane to participate in its restoring and formation. After Fm swelled completely, mitochondria decreased suddenly and disappeared since cortical granules' exocytosis had ceased. In short, the changes of mitochondria on its numbers, shapes and distribution, reflected the trait on physiological activation and energy supply in different stages of Fm formation. From the angle of the changes and functions of mitochondria, this study illuminated the mechanism of Fm formation on cellular level, and provided a new research field for Fm formation in Crustacea.

Key words: *Scylla paramamosain*; fertilization membrane; mitochondria; cortical reaction

Corresponding author: LI Shao-jing. E-mail: zoopecol@xmu.edu.cn



图版 I

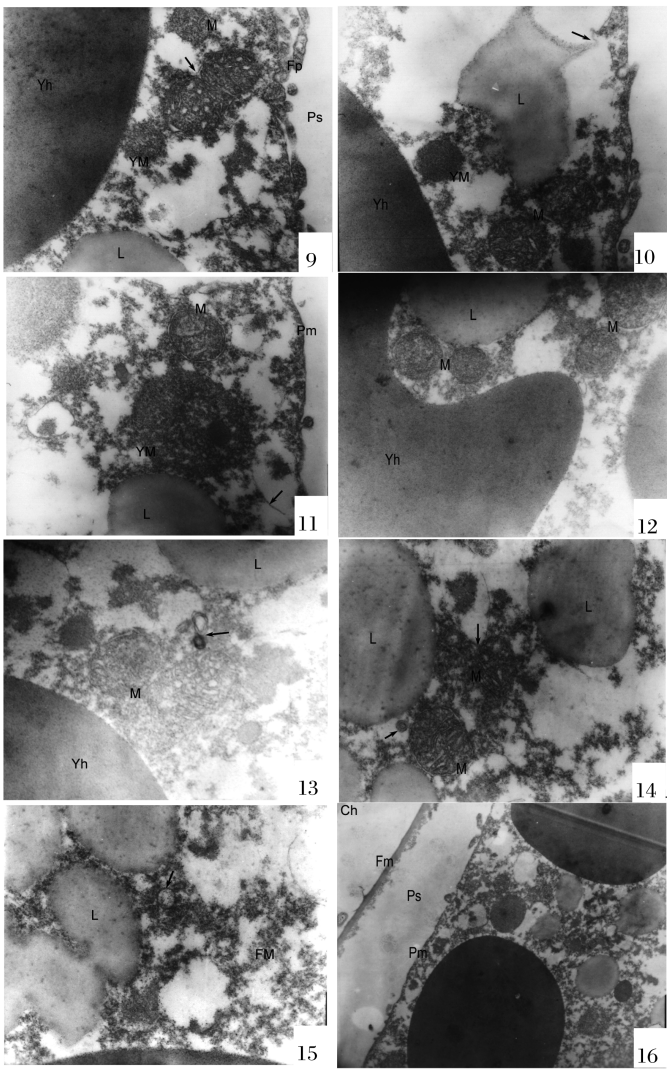
1. 受精膜平缓期,示大量线粒体集群分布,线粒体在出芽(↑)×40 000; 2. 受精膜平缓期,示哑铃形大线粒体似在分裂(↑)×40 000; 3. 受精膜增厚期,示线粒体分散皮质周围,线粒体在分裂(↑)×17 000; 4. 受精膜增厚期,示大量在溶解的脂滴以及大小线粒体 ×10 000; 5. 受精膜举起初期,示正在溶解的脂滴和 Yh,及线粒体 ×10 000; 6. 受精膜举起初期,示 Yh 快速分解,环形颗粒在形成,线粒体一分为二(↑)×15 000; 7. 受精膜举起初期,示环形颗粒嵌套结构和线粒体 ×20 000; 8. 受精膜举起初期,示新质膜旁 Yh 在溶解(↑),线粒体以及环形颗粒 ×2 5000。

Ch:壳膜; Fm:受精膜; Fp:指状突起; Pm:卵质膜; Ps:卵周隙; Rg:环形颗粒; Yh:高电子密度卵黄颗粒; FM:絮状物质; L:脂肪滴; M:线粒体; YM:卵黄粒型线粒体。

Plate I

1. At the placid phase of Fm, shows many mitochondria assemble densely, arrow indicates mitochondria is budding ×400 00; 2. At the placid phase of Fm, arrow shows a big dumbbell-shaped mitochondria is splitting ×40 000; 3. At the thickening phase of Fm, shows numerous mitochondria distribute around cortex, arrow indicates mitochondria is budding ×17 000; 4. At the thickening phase of Fm, shows many mitochondria and dissolving lipid drops ×10 000; 5. At the beginning of swelling phase of Fm, shows dissolving lipid drops and Yh, and mitochondria ×10 000; 6. At the beginning of swelling phase, shows Yh dissolving rapidly and Rg developing, arrow indicates mitochondria is splitting ×15 000; 7. At the beginning of swelling phase, shows nested Rg and mitochondria ×20 000; 8. At the beginning of swelling phase, shows Rg and mitochondria near new plasm membrane, arrow indicates Yh is dissolving ×25 000.

Ch: chorin; Fm: fertilization membrane; Fp: finger protuberance; Pm: plasm membrane; Ps: perivitelline space; Rg: ring-shaped granule; Yh: high yolk granule; FM: floculent material; L: lipid drop; M: mitochondria; YM: yolky mitochondria.



图版 II

9. 受精膜举起初期,示新质膜旁正在形成卵黄粒型线粒体,成熟线粒体在分裂(↑)×25 000; 10. 受精膜举起初期,示两种类型的线粒体,在溶解的 Yh 和脂滴参与新质膜修复(↑)×25 000; 11. 受精膜举起初期,示新质膜平滑处的两种类型线粒体,卵黄絮状物质和溶解的脂滴参与新质膜修复(↑)×25 000; 12. 受精膜举起初期,示靠近内质的 Yh 分解的凹陷内的脂滴和线粒体 ×25 000; 13. 受精膜举起初期,示脂滴和 Yh 间的线粒体和膜状结构(↑)×20 000; 14. 受精膜举起初期,示脂滴间线粒体在分裂(↑),以及近旁的膜状结构(↑)×25 000; 15. 受精膜举起初期,示在溶解的脂滴,卵黄絮状物质中的膜状结构(↑)×30 000; 16. 受精膜举起期,示三层结构的孵化膜已形成,线粒体不常见 ×8 000。
Ch:壳膜; Fm:受精膜; Fp:指状突起; Pm:卵质膜; Ps:卵周隙; Rg:环形颗粒; Yh:高电子密度卵黄颗粒; FM:絮状物质; L:脂肪滴; M:线粒体; YM:卵黄粒型线粒体。

Plate II

9. At the beginning of swelling phase, shows yolky mitochondria is developing near new plasm membrane, arrow indicates mature mitochondria is splitting ×25 000; 10. At the beginning of swelling phase, shows two types of mitochondria, dissolving Yh and lipid drops participate the formation of new plasm membrane ×25 000; 11. At the beginning of swelling phase, shows two types of mitochondria, flocculent material and dissolving lipid drops participate the restoring of new plasm membrane ×25 000; 12. At the beginning of swelling phase, shows lipid drop and mitochondria locate in the dissolving Yh hollow near endoplasm ×25 000; 13. At the beginning of swelling phase, shows mitochondria and membrane-like structure (arrow indicates) between lipid drops and Yh ×20 000; 14. At the beginning of swelling phase, shows among lipid drops mitochondria is splitting and producing membrane-like structure (arrow indicates) ×25 000; 15. At the beginning of swelling phase, shows membrane-like structure (arrow indicates) among lipid drops and flocculent material ×30 000; 16. At the swelling phase of Fm, shows the hatching membrane of three layers has formed, and mitochondria disappear ×8 000.
Ch: chorin; Fm: fertilization membrane; Fp: finger protuberance; Pm: plasm membrane; Ps: perivitelline space; Rg: ring-shaped granule; Yh: high yolk granule; FM: flocculent material; L: lipid drop; M: mitochondria; YM: yolky mitochondria.