

激光显微照射金鱼受精卵对其胚胎发育的影响

陆仲康 梁宏 王春元 徐正平

(中国科学院遗传研究所,北京)

2-细胞期胚胎经激光显微照射(功率为 90 毫瓦)其中一个卵裂球时能产生明显的损伤光斑,受照射的卵裂球立即停止发育。另一未受照射的卵裂球仍能正常卵裂直至孵化幼鱼,所获得的幼鱼在形态上与正常幼鱼相同。8-细胞或囊胚期胚胎经激光显微照射(功率为 372 毫瓦)时,则可在受照射的卵裂球上产生明显伤斑,并在照射部位溢出部分细胞内含物,绝大部分胚胎发育成不正常的胚体和各种畸形幼鱼。

关键词: 激光,显微照射,金鱼,胚胎发育

自从 1962 年 Bessis 等人^[1]首先应用红宝石激光显微照射装置对生物细胞进行显微照射以来, Daniel 和 Takahashi^[2]应用红宝石激光显微照射破坏兔 2-细胞期、8-细胞期和 16-细胞期的卵裂球,在每个时期中只剩一个未接受照射的卵裂球,在离体培养过程中能按正常分裂时相发育到桑椹胚。白琴华等人^[3]在小鼠和兔 2-细胞期胚胎用红宝石激光显微照射破坏其中一个卵裂球,另一卵裂球能继续在离体培养下发育到桑椹胚(兔)或胚泡期(鼠)。在两栖类动物受精卵的发育方面,McKinnell 等人^[4]应用红宝石激光显微照射破坏了豹蛙受精卵中雌原核获得了典型的单倍体胚胎。张开兴^[5]、徐石宽等人^[3,4,5]应用红宝石激光显微照射泽蛙、黑眶蟾蜍的受精卵研究了对其胚胎发育的影响,并获得各种畸形胚胎或畸形蝌蚪,但他们不能发育到变态期。利用电离辐射等其他物理或化学方法对金鱼早期胚胎发育的影响的研究虽已有报道^[6,7,8],但利用激光显微照射的研究迄今未见报道。本文主要报道用氩离子激光显微照射仪照射金鱼受精卵,以研究激光对金鱼早期胚胎发育的影响。

材料和方法

激光照射使用本实验室的 YW-1 型氩离

子激光显微照射仪^[9]。氩离子激光器多模输出,功率为 6 瓦,本试验使用波长为 5145 埃的绿光。激光束通过干涉滤光片折射入光学显微镜内,沿光轴进入物镜到达样品表面。样品表面功率分别为 90 和 372 毫瓦,脉宽 0.01 秒,激光束形成的光斑直径为 13.5 微米。试验材料^[10]为成熟的雌雄金鱼,取即将排卵的雌鱼用人工挤卵法将卵挤入盛有自来水和小盖玻片的平皿内(水温为 24℃),与此同时,将成熟的雄鱼精液挤入同一平皿内,轻轻摇晃均匀使其授精,约 1 小时左右受精卵开始第一次卵裂。根据实验需要,将不同卵裂期的胚胎置于显微镜载物台上,用目镜十字叉线定位,用激光显微照射其中一个卵裂球或其他特定部位。激光照射后,继续按常规方法培养生长。在激光照射前和照射后的发育过程中,用解剖镜定时观察和照相记录。

结果和讨论

金鱼 2-细胞期胚胎经激光显微照射(功率为 90 毫瓦)其中一个卵裂球后,可以明显地看

Lu Zhongkang et al.: Effect on Embryonic Development by Laser Microirradiation to Fertilized Ova in Gold Fish

本文于 1987 年 9 月 14 日收到。

到经激光照射后的损伤光斑(图版 I, 1—4),损伤可通过角质卵膜一直达到质膜的表面。角质卵膜上的损伤光斑扩及至质膜表面,这显然是由于激光的热作用将角质卵膜汽化所产生的,但质膜上未出现可见空洞或伤斑,更未见到细胞内含物溢出。随着胚胎的发育,受照射的卵裂球不能继续卵裂,未受照射的另一卵裂球则能继续正常卵裂直至孵化成幼鱼。所获得的幼鱼在形态上与正常幼鱼相同,未见异常。如果在2-细胞期胚胎的一个卵裂球上加大照射剂量(功率为372毫瓦)时,则可在受照射的卵裂球上产生明显的伤斑,并通过质膜和角质卵膜立即溢出细胞内含物。在这种情况下,受照射的卵裂球可以直接遭到破坏,而且另一未受照射的卵裂球也会受到影响,或者停止发育而死亡,或者产生不规则卵裂,经几次卵裂之后,不能正常发育而解体死亡。

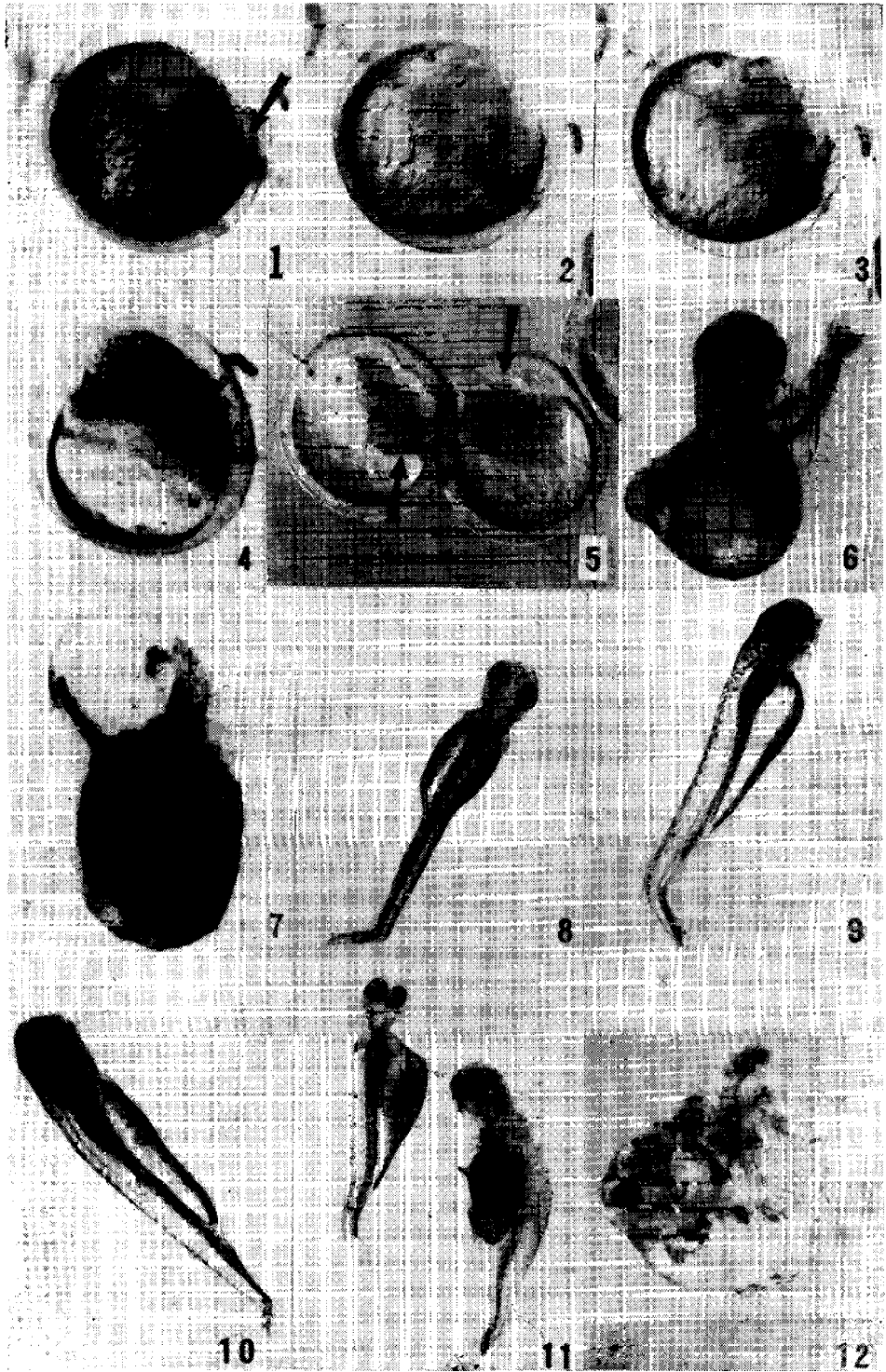
金鱼8-细胞期或囊胚期胚胎经较大剂量(功率为372毫瓦)的激光显微照射后,在接受照射的卵裂球表面上可以看到明显的损伤光斑,同时出现部分细胞内含物溢出(图版 I, 5)。但在继续培养过程中,绝大部分胚胎发育成不正常的胚体。那些不正常的胚体能进一步发育到孵化期或游动期。在孵化期时能观察到围心腔或体腔膨大的畸形(图版 I, 6—7),由于在该时期中胚胎发育受阻不能继续发育到游动期而死亡。在游动期时能观察到大量脊尾或脊椎弯曲的畸形幼鱼(图版 I, 8—10)。有些脊椎扭曲严重的畸形幼鱼由于丧失游动能力或其他功能,在短期内夭折。脊尾弯曲畸形可能由于在脊尾骨发育中发生扭转,明显地与脊椎不在同一直线上而形成一定角度,因此,在发育过程中出现各种不同程度和不同方向的脊尾弯曲畸形,这种畸形幼鱼由于尚能自由游动和摄食,所以还能继续存活发育。此外,还观察到脊尾变短等发育不全(图版 I, 11)以及眼发育不全或缺乏色素(图版 I, 12)等各种畸形。以上各种畸形在本试验的对照组中从未出现过。

实验结果表明,在适宜剂量的氩激光显微照射2-细胞期胚胎时,激光能破坏金鱼2-细胞

期胚胎中的一个卵裂球,而另一卵裂球不受影响,在继续培养过程中仍能正常卵裂,发育成正常幼鱼。这与 Daniel 等^[12]和白琴华等^[11]用红宝石激光显微照射哺乳类小鼠和兔的2-细胞期胚胎的研究结果相类似。在8-细胞期或囊胚期胚胎用较大剂量的氩激光显微照射时,可以得到各种畸形胚胎或孵化出畸形幼鱼,这与其他作者用X-射线辐照^[6]或超声波^[7]以及化学药品^[3]处理金鱼或其他鱼类受精卵对胚胎发育的影响的研究结果相一致。此外,实验结果还表明,在8-细胞期或囊胚期胚胎经372毫瓦氩激光显微照射与2-细胞期胚胎用同一剂量照射相比较时,前者尽管在发育过程中产生大量畸形胚胎或畸形幼鱼,但毕竟还能存活发育,甚至孵化成幼鱼。而后者则大量死亡,说明用氩激光照射时对2-细胞期胚胎较为敏感,这与泽蛙受精卵不同卵裂期用红宝石激光照射的实验结果相一致^[2]。因此,激光显微照射可以作为一种特殊的显微操作技术对早期胚胎进行简便而快速的显微操作,用于研究动物早期胚胎发育过程中的调节能力和进一步应用这一项技术为研究发育遗传等方面提供实验手段,同时对胚胎定位的研究可能也是一种理想的工具。此外,激光显微照射金鱼早期胚胎也象其他物理和化学方法一样能够诱发获得各种畸形类型。

参 考 文 献

- [1] 白琴华等: 1982. 遗传学报, 9(1): 40—43.
- [2] 张开兴等: 1981. 应用激光, 1(3): 14—16.
- [3] 徐在宽: 1982. 应用激光, 2(5): 43.
- [4] 徐在宽: 1983. 应用激光, 3(4): 23—26.
- [5] 徐在宽: 1984. 应用激光, 4(5): 217.
- [6] 汪安琦等: 1960. 动物学报, 12(1): 127—130.
- [7] 汪安琦等: 1962. 遗传学集刊, 1(1): 42—48.
- [8] 陈 慎: 1959. 金鱼家化与变异, 第47—58页, 科学出版社.
- [9] 陆仲康等: 1984. 中国激光, 11(4): 239—243.
- [10] 李 璞等: 1959. 动物学报, 11(2): 145—154.
- [11] Bessis, M. F. et al.: 1962. *C. R. Acad. Sci.*, 225: 1010—1012.
- [12] Daniel, J. C. and K. Takahashi, 1965. *Exp. Cell Res.*, 39: 475—479.
- [13] McKinnell, R. M. F. et al.: 1969. *Z. Zell.*, 93: 30—35.



1. 2. 细胞期的一个卵裂球经激光照射出现的损伤光斑(箭头所示); 2-4. 未经照射的卵裂球按正常发育时相发育到囊胚期胚胎; 5. 8-细胞期经激光照射后出现的损伤光斑(箭头所示); 6-7. 体腔和围心腔膨大畸形; 8-10. 脊椎或脊尾弯曲畸形; 11. 短脊尾畸形; 12. 眼发育不全或缺乏色素。