

—18℃冷冻条件下中国对虾肌细胞 线粒体超微结构的变化*

姜 明 刘晓云 范瑞清

(青岛海洋大学测试中心, 青岛 266003)

摘要 通过对冷冻(—18℃)条件下保存 400d 的中国对虾肌细胞线粒体超微结构变化的透射电镜观察, 结果表明: 内嵴肿胀, 外膜破裂、溶解, 线粒体变形膨胀, 严重者解体, 其中外膜破坏快于内嵴。肌细胞线粒体的变化可分为 3 个时期(初冻期、稳定期和解体期)。

关键词 冷冻(—18℃) 中国对虾 线粒体 超微结构

随着近海养殖业的蓬勃发展, 对海珍品的科学研究日益深入。中国对虾作为主要海水养殖品种, 已成为多学科研究的重点。目前, 对常温下中国对虾肌纤维结构的基础研究^[1,2]及对虾保鲜应用技术^[3,4]的研究已有不少报道, 而对中国对虾肌细胞在低温状态下结构变化的研究报道甚少。在肌细胞中, 线粒体是参与细胞代谢、呼吸和提供能量的主要细胞器^[5], 因此本文对低温状态下, 中国对虾肌细胞线粒体超微结构的变化进行了电镜观察, 从形态学的角度, 探讨其超微结构在低温状态下的变化规律。

1 材料和方法

中国对虾 (*Penaeus chinensis*) 采自青岛近海养殖场, 系鲜活成体虾, 体长 10~12cm, 分为对照和冷冻组。对照组系活体取材。冷冻组, 将活虾装入塑料袋, 置于已处—18℃的冷冻箱内速冻, 保存条件为—18±1℃, 分别经 60、140、180、220、280、340、400 d 冷冻状态下取材。取虾腹部第二腹体节侧面深层肌组织体约 0.5mm³, 速投入 1℃, 2.5% 戊二醛磷酸缓冲液内固定 2h, 1% 锇酸磷酸缓冲液固定 1h, 常规梯度乙醇脱水, EPON812 包埋。用 LKB—NOVA 超薄切片机切片, 常规电镜切片染色^[6], 使用日立 H—7000 透射电镜观察摄影。

2 结果与讨论

2.1 结果

* 本文曾在 1992 年第七次全国显微与亚微形态科学会上宣读。

收稿日期: 1995—10—28, 修回日期: 1996—03—01

2.1.1 对照组 由透射电镜对肌肉组织超薄切片样品的观察结果看,肌细胞结构紧密,线粒体整体结构均匀,外膜及内膜平滑完整,内嵴呈细长形且分布均匀,基质腔内电子密度均匀。肌纤维排列紧密,肌浆网紧贴其间。细胞整体结构均匀,无明显间隙(图版1-1)。

2.1.2 60d组 线粒体外形及内部结构无明显变化,外膜局部有破损,内嵴有轻微膨胀,肌原纤维间出现不均匀的空白区。

2.1.3 140d组 线粒体外形略有膨大,外膜破损加大,外膜和内膜有轻微扭曲,呈小泡状,内嵴略有水肿,基质腔内出现空白区。肌纤维结构良好,无明显改变(图版1-2)。

2.1.4 180d组 与140d组比较外形变化轻微,50%左右外膜破损溶解,内嵴继续水肿,部分溶解,肌纤维I-带和Z-线^[7]出现轻微收缩现象(图版1-3)。

2.1.5 220d组 线粒体外形较180d组稍有膨胀,外膜进一步溶解,内嵴结构与180d组差别不大,部分水肿程度增加。

2.1.6 280d组 线粒体仍然缓慢膨胀,外膜大部分溶解,但线粒体尚未解体,内嵴有部分溶解,大部分内嵴膜相结构仍未受破坏,此时,肌纤维间隔增大,I-带和Z-线明显内缩,但整体结构良好。

2.1.7 340d组 线粒体体积显著扩大,趋于解体,外膜基本破损溶解,局部有极少外膜残存,内嵴散乱分布于肌原纤维间的肌浆中,内嵴水肿严重,呈池状(但部分膜相结构仍完整),说明肌原纤维间微小冰晶已明显增大。

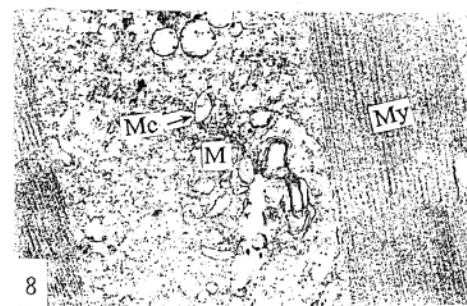
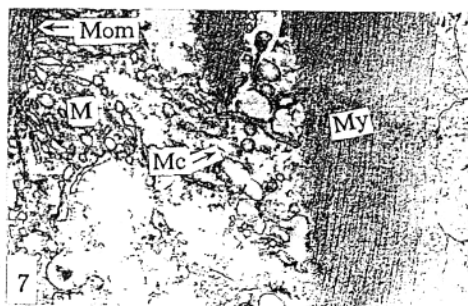
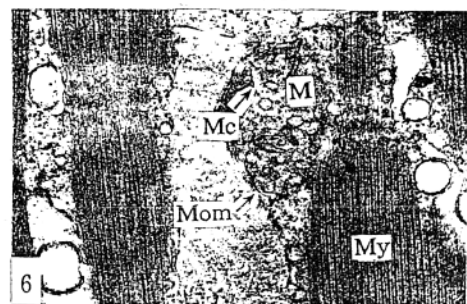
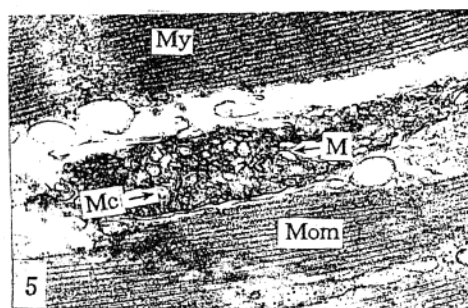
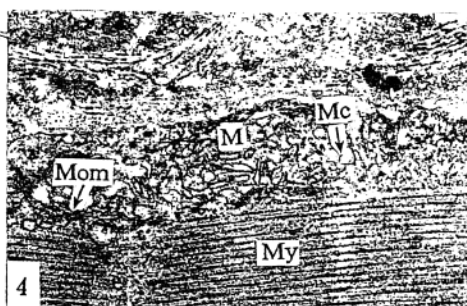
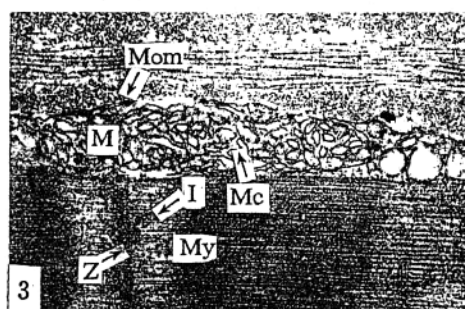
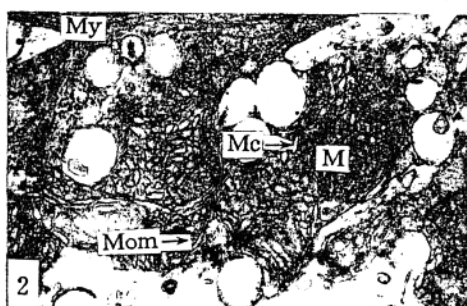
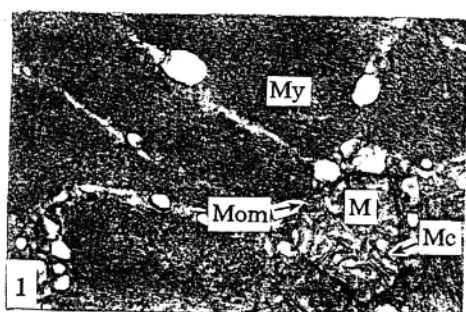
2.1.8 400d组 线粒体完全解体,外膜已不复存在,散乱于肌中的内嵴大部分溶解,少量内嵴膜相结构仍完整,但膨胀严重,肌纤维间隔明显增加,分布有电子密度较高的颗粒,可能与蛋白质和脂类物质凝结有关。

2.2 讨论

通过观察结果的分析可以看出,经过长达400d的-18℃恒温冷冻保存,线粒体解体,外膜及部分内嵴溶解,但肌原纤维及肌浆网超微结构仍然良好,这表明低温状态下线粒体仍然是肌细胞中较为敏感、变化较快的细胞器,其变化过程拟分为3个时期,即初冻期、稳定期和解体期。初冻期线粒体略有膨胀,外膜有轻微破损,内嵴结构良好,略有膨胀,这个时期约60~100d;稳定期线粒体的外形、体积保持相对稳定,外膜破损程度增大,内嵴膨胀部分呈小泡状,内外膜扭曲变形较轻,此时期持续较长,可达180~230d;解体期线粒体体积明显膨大,大部分解体,外膜基本破损溶解,内嵴明显水肿且大量溶解。由此可见,不同时期线粒体超微结构呈现不同的特点和变化趋势,同时也间接地反映了对虾在低温保鲜中鲜度的变化规律,与于广利对-18℃冷冻保存对虾形态感官检查结果是一致的。

线粒体是细胞中的供能和代谢中枢,常温下线粒体超微结构的改变以内嵴溶解为开端,外膜相对稳定。而我们对低温状态下线粒体观察结果表明,外膜破损较快,内嵴的变化则要经历较缓慢的过程,甚至冷冻保存400d时,有部分线粒体较完整的内嵴结构。作者认为,造成这种现象的原因:(1)可能是低温状态下,线粒体内部的多种氧化酶和辅酶的活性受到明显抑制,使酶促反应和非酶促化学反应非常缓慢^[8,9];(2)线粒体外膜破损,主要是由于低温下,肌浆中细胞液形成微小冰晶核,随着保存时间的延长,冰晶核吸收水分逐渐

增大形成挤压作用,导致了其外膜较快破损。



图版 I 说明

Explanation of Plate I

1. 对照组肌细胞线粒体的超微结构(M——线粒体; Mom——外膜; Mc——内嵴; My——肌原纤维)[$\times 22\ 500$]
2. 冷冻 60d 肌细胞线粒体的变化(I—I 带; Z—Z 线)[$\times 22\ 500$]
3. 冷冻 140d 肌细胞线粒体的变化[$\times 22\ 500$]
4. 冷冻 180d 肌细胞线粒体的变化[$\times 23\ 500$]
5. 冷冻 220d 肌细胞线粒体的变化[$\times 23\ 500$]
6. 冷冻 280d 肌细胞线粒体的变化[$\times 22\ 500$]
7. 冷冻 340d 肌细胞线粒体的变化[$\times 22\ 500$]
8. 冷冻 400d 肌细胞线粒体的变化[$\times 22\ 500$]
1. The Ultrastructure of Myocyte Mitochondrial (untreated); M—Mitochondria; Mom—Mitochondrial out membrane; Mc—Mitochondrial cristae; My—Myofibrilla[$\times 22\ 500$]
2. The changes of Myocyte Mitochondria (after frozen 60 days) (I: I—band, Z; Z—line[$\times 22\ 500$])
3. The changes of Myocyte Mitochondria (after frozen 140 days)[$\times 22\ 500$]
4. The changes of Myocyte Mitochondria (after frozen 180 days)[$\times 23\ 500$]
5. The changes of Myocyte Mitochondria (after frozen 220 days)[$\times 23\ 500$]
6. The changes of Myocyte Mitochondria (after frozen 280 days)[$\times 22\ 500$]
7. The changes of Myocyte Mitochondria (after frozen 340 days)[$\times 22\ 500$]
8. The changes of Myocyte Mitochondria (after frozen 400 days)[$\times 22\ 500$]

参考文献

- 1 叶 容. 虾横纹肌原纤维结构的电子显微镜研究. 生理学报, 1966, 29(2): 239~253
- 2 卢建平, 等. 中国对虾 *PENAEUS CHINENSIS* (O'SBECK) 肌肉系统的研究. 青岛海洋大学学报, 1994, 24(4): 539~548
- 3 王卫国, 等. 生物保鲜剂对中国对虾肌肉的显微和超微结构观察. 海洋学报, 1992, 14(2): 135~137
- 4 于广利, 等. 新型虾保鲜剂(ppr-1)在对虾保鲜中的应用. 青岛海洋大学学报, 1995, 25(2): 180~186
- 5 郑国锷. 细胞生物学. 北京: 高等教育出版社, 1986. 119~140
- 6 洪涛主编. 生物医学超微结构与电子显微技术. 北京: 科学出版社, 1980
- 7 LUISC JUNQUEIRA JOSE CARNEIRO. Basic Histology Copyright in Canada Lithographed in USA. 1980. 217~235
- 8 叶春艳, 等. 松花江鲤鱼肌肉肌苷酸含量和鱼肉保鲜时间的研究. 水产科学, 1995, 14(5): 15~17
- 9 富山哲夫, 等. 低温贮藏におけるコイ肉ヌワレオチドの変化上鮮度について. 日本水产学会志, 1966, 32(3): 262~266