

# 莫桑比克罗非鱼幼鱼的性腺发育与分化\*

陈玉琳 胡秀敏 朱雅珠  
(上海市水产研究所)

## 提 要

本文介绍了莫桑比克罗非鱼幼鱼性腺的发育和分化的观察结果。用组织学方法观察,莫桑比克罗非鱼幼鱼的性腺发育,可以明显地区分为三个阶段,即:性腺的原始阶段,性腺分化前期阶段,性腺分化完成阶段。

作者认为,对莫桑比克罗非鱼的诱变试验,应在前两阶段进行;当幼鱼体长达到15mm以后,性腺分化已基本完成,性激素的处理不可能取得性诱变的明显效果。

目前国内外都在进行采用雄性激素促使莫桑比克罗非鱼性诱变的研究,以求取得单一雄性的鱼类,达到加快生长速度,提高产量的目的。要使性诱变获得更高的雄性比例,就必须了解和掌握莫桑比克罗非鱼性别分化、性腺发育的过程和规律,以便更有效地利用甲基睾丸酮促使莫桑比克罗非鱼性诱变,控制性激素处理的最适时机。目前国内有关莫桑比克罗非鱼性别分化和性腺发育的报告尚未见到。国外,Hiromasa Yoshikawa 和 Mikio Oguri (1969),对齐氏罗非鱼的性别分化进行过研究<sup>[3]</sup>。S. Dadzie 曾于1969年和1974年分别发表过莫桑比克罗非鱼的精子发生和卵子发生的研究报告,但是对性分化方面并没有论述<sup>[4]</sup>。为此,我们于1978年5月中旬至9月下旬,通过莫桑比克罗非鱼性腺的组织切片观察分析,对该鱼的原始生殖细胞的发生,性别分化的规律以及性腺发育成熟过程进行了初步的研究。现加以整理报导,以提供进行莫桑比克罗非鱼性诱变实验时参考。

## 材 料 和 方 法

### (一) 实验的材料和方法

实验所用的材料是,五月中旬从上海市水产研究所养殖场池塘捕捞自然产卵和孵化的莫桑比克罗非鱼,以及从十余尾雌鱼口中取出刚孵出的卵黄囊尚未消失的鱼苗。由于要了解在自然条件下莫桑比克罗非鱼的性分化过程,我们没有采用恒温设备,而是把鱼苗直接饲养在池塘网箱中,以供取样。随鱼体增大而更换网箱。实验期间池塘的水温为20—30°C。饲料为豆饼粉。

\* 本文始终得到复旦大学副教授邵炳绪先生的热心指导,在此表示感谢。文内照片由孙宝璐同志拍摄。

## (二) 组织切片

切片取样:分为全长6—7mm(卵黄囊未消失),9mm(卵黄囊已消失),11mm,13mm,15mm(孵出10—11天),20mm(孵出15天),25mm(孵出30天),75mm(孵出60天),105mm(孵90天),129mm(孵出120天)的鱼苗和成鱼等十组。每组取样10尾,实验共观察了100尾莫桑比克罗非鱼(性未分化及开始分化的鱼苗70尾,性发育成熟的鱼30尾)的性腺。每一标本均测量全长,体长,体重,并取出性腺,测量宽度,然后切取部份性腺,用波恩(Bouin)氏固定液固定,石蜡包埋法制成厚度为5—7微米的连续切片,苏木精和伊红染色。卵黄囊未消失及小于30mm的鱼苗,其性腺极为细微,无法分离取出,我们剪取胸鳍后缘和肛门前部一段固定。大于30mm而小于40mm的鱼苗,其性腺仍很细小,难以分离,则连同邻近的腹膜一起剥离,切下固定。大于40mm的鱼,性腺已稍粗,则直接解剖,取出部份性腺加以固定。切片制成后,在显微镜下用目微尺测量性腺及卵母细胞,精原细胞的大小。

## 实验结果

### (一) 原始性腺的发生分化

当莫桑比克罗非鱼刚刚孵出2—3天,卵黄囊尚未消失,全长为6—7mm时,性腺尚未形成,但已经能清楚地观察到由原始生殖细胞组成的性腺原基。它位于躯干后部的背大动脉,中肾管和肠管之间的体腔膜基部(图版I:1)。性腺原基平均宽度仅为 $16.7\mu$ ,在原基中有1—2个原始生殖细胞。细胞呈圆形,较大,其直径为 $16—22\mu$ 。细胞质染色淡,细胞核比较大,直径为 $8.36—12.5\mu$ 。在性腺原基外由5—6个扁平细胞所包围。扁平细胞来源于体腔膜,它在下一阶段将演变为滤泡膜(图版I:2)。

当鱼苗孵出4—5天,卵黄囊已消失,全长为9mm时,从组织切片测量中观察到,在不同个体中,性腺原基的宽度和生殖细胞数目开始出现差异,即一部分个体的性腺原基发育得较大,另一部分个体的性腺原基仍然很小。最大的性腺原基宽度为 $22.7\mu$ ,已有4—5个生殖细胞;小的性腺原基宽度仅有 $16\mu$ ,细胞数目仍只有1—2个。细胞直径前者为 $9.3—11.5\mu$ ,后者为 $10.8—13.3\mu$ 。

当鱼苗全长为11mm时,性腺原基已位于背大动脉和肠系膜基部的两侧,生殖细胞成簇出现。大的性腺原基平均宽度为 $23.4\mu$ ,小的性腺原基平均宽度为 $17.0\mu$ 。这时生殖细胞直径及核径均无明显增长。在性腺原基中开始出现微血管,血管中可见血球1—3个。

当鱼苗全长为13mm时,大的性腺原基平均宽度为 $24.5\mu$ ,小的性腺原基平均宽度为 $17.3\mu$ 。进入性腺原基中的血管已较粗,血球增加到3—4个,性腺原基已从体壁游离,延伸入腹腔中(图版I:3)。

当鱼苗全长为15mm时(大约孵出10—11天),性腺原基的分化更加明显。大的性腺原基宽度迅速增大,已达到 $33.9\mu$ ,其生殖细胞出现有丝分裂相,随着有丝分裂相产生,

生殖细胞数目也迅速增加，一般为 10—14 个，并逐渐形成原始性腺(图版 I:4)。这时的性腺原基虽已分化，但还不能明显区分精巢，卵巢，故称原始性腺。另一类小的性腺原基仍增长较慢，宽度为  $27.5\mu$ ，生殖细胞仍然只有 2—3 个，尚未出现有丝分裂相，仅有少数的细胞分散在基质中(图版 I:5)。

前一类型出现有丝分裂相细胞的原始性腺，将来发育成为卵巢；而仍处在“静止”期的小的性腺原基将来发育成为精巢。

## (二) 卵巢的发育

卵巢是由大的性腺原基发育而成。孵出 15 天左右，鱼苗全长为 20mm 时，大的性腺原基发育为卵巢已完全定型，其宽度为  $67.8\mu$ ，并有 12—20 个生殖细胞，细胞直径较大，为  $15.3—19.5\mu$ ，核径为  $10.4—13.0\mu$ ，它是由前一期有丝分裂相细胞发育而成的配丝期卵母细胞，这是由卵原细胞发育为卵母细胞的最早时期，已能开始观察到新月形的卵巢腔(图版 I:6)。

鱼苗孵出 30 天左右，全长为 25.4mm 时，卵母细胞进入小生长期的稚龄时相。卵巢迅速增大，直径为  $117.5\mu$ ；卵母细胞呈圆形或卵圆形，直径  $38.6—48.8\mu$ ，最大达  $62.7\mu$ ，核是圆形或卵圆形，核径  $18.4—27.5\mu$ ，占卵母细胞直径一半以上。核仁 3—7 个，多数位于核中央。细胞膜薄，膜外附着 3—4 个相距较远的扁平长形核。这些长形核在下一期将演变为滤泡膜。在这一阶段仍然可以观察到卵巢腔(图版 I:8)。

鱼苗孵出 60 天左右，全长为 75.2mm 时，卵巢宽度为  $330\mu$ ，大部分卵母细胞已发育成为一层滤泡膜时相。卵母细胞大多数为多角圆形，直径为  $102—119\mu$ ，核圆形或卵圆形，直径  $54.4—68.0\mu$ ，仍占卵母细胞一半左右；核仁数目增加，为 5—24 个，由核中央移向核边缘。这时的卵母细胞具有一层很薄的细胞膜和一层滤泡膜，滤泡膜是由扁平的长形核相互靠近排列构成(图版 I:9)。在发育较快的卵巢中卵母细胞已具有二层滤泡膜并出现液泡及细小的卵黄粒沉积，卵黄颗粒由小增大，数量增多，细胞膜外也出现了卵黄膜(图版 II:10,11)。

孵出 90 天左右，全长为 105.4mm 时，从切片观察，卵巢中以充满卵黄的卵母细胞为主体，其直径为  $670—798\mu$ ，卵黄已由颗粒融合成片，液泡已形成大的油球，早期核呈变形虫状，核仁 6—23 个，紧贴核膜，后期核呈卵圆形，核仁转移到核中央。卵巢少部份处在 IV 期初，大部份已进入 IV 期末，由此可见孵化出 90 天左右的莫桑比克罗非鱼的卵巢已接近成熟阶段(图版 II:12)。

## (三) 精巢的发育

精巢是由一部份个体具有小型性腺原基发育而来。原始性腺分化为精巢，要比分化为卵巢迟一些。孵出 15 天左右，一部份鱼苗具有的性腺原基仍然很小，宽度为  $35\mu$ ，仅为卵巢的一半左右，生殖细胞数目只有 4—6 个左右，直径只有  $10.2—12.9\mu$ ，核径也较小，为  $7.5—9.7\mu$ ，生殖细胞仍处在“静止”期(图版 I:7)，这一类性腺的发育趋势是精巢，鱼苗孵化后 30 天，全长为 25.4mm 时，才能从一类较小的性腺的细胞中观察到有丝分裂相，这一类性腺宽度为  $44.6\mu$ ，比同时期的卵巢小得多，仅为卵巢的三分之一。生殖细胞

直径仅 10.4—11.7 $\mu$ ，核径为 7.5—8.5 $\mu$ 。而细胞数目却因有丝分裂而增加到 10 个左右。所以较晚出现有丝分裂相的性腺，是开始分化为精巢的标志(图版 II:13)。

60 天左右当全长为 75mm 时，精巢已形成并进入 III 期初了，精巢的宽度为 240.7 $\mu$ 。在精巢中已产生了数量较多的精原细胞，有的仍在进行有丝分裂，一部份精原细胞已分裂为初级精母细胞。精原细胞排列成群并形成壶腹，壶腹间由结缔组织分隔，同时在壶腹中开始出现空腔，这空腔将来发育成为输出小管。莫桑比克罗非鱼精巢的空腔特别多，最多达 5—6 个，为莫桑比克罗非鱼精巢发育的特点之一(图版 II:14)。

在这个阶段的精巢中，还出现 2—3 条较粗的血管，管腔中有数个血球。

孵出后 90 天左右，全长为 105mm 时，在精巢中，除可见到初级精母细胞(直径 6.27—8.36 $\mu$ ，核径 3.17—4.18 $\mu$ )次级精母细胞(直径 3.13—4.18 $\mu$ ，核径 2.09—3.13 $\mu$ )精子细胞外，在精巢的空腔中开始出现密集流动的精子，这时精巢已达到成熟阶段(图版 II:15,16,17)。

现将各阶段性腺分化与发育情况概括为下表。

附表 莫桑比克罗非鱼各阶段性腺分化和发育简表

全长 (mm)	孵出时间 (天)	实验鱼尾数	卵黄囊情况	性腺平均宽度( $\mu$ )		生殖细胞平均直径( $\mu$ )		横切面中生殖细胞数目(个)		性别分化情况	
				大型性腺	小型性腺	大型性腺	小型性腺	大型性腺	小型性腺	大型性腺	小型性腺
6—7	2—3	10	未消失	16.7		16.3—22.4		1 (极少数2)		原始生殖细胞	
9	4—5	10	消失	22.7	16.7	10.8—13.3	9.3—11.5	3—5	1—2	原始生殖细胞	原始生殖细胞
11		10	消失	23.4	17.0	13.63—14.66	10.45—12.54	4—6	2—3	原始生殖细胞	原始生殖细胞
13		10	消失	24.5	17.3	13.63—14.66	10.45—12.54	4—6	2—3	原始生殖细胞	原始生殖细胞
15	10—11	10	消失	33.9	27.5	12.24—14.67	10.45—12.54	10—14	2—3	有丝分裂相 (卵巢分化的标志)	“静止”期 原始生殖细胞
20	15	10	消失	67.8	35.0	15.3—19.5	10.2—12.9	12—20	4—6	配丝期卵母细胞 (卵巢形成)	“静止”期 原始生殖细胞
25	30	10	消失	117.5	44.6	38.6—48.7	10.4—11.7	12—20	8—10	稚龄时相卵母细胞 (卵巢形成)	有丝分裂相 (精巢分化的标志)

## 小结和讨论

通过对莫桑比克罗非鱼性腺发育的组织学切片研究。可以明显地观察到它的分化发育过程分为三个阶段：

1. 性腺尚未分化的原始阶段。这个阶段大体上是从鱼苗孵出起到鱼苗全长达到 9mm 这个期间。这时的鱼的性腺仅为少数的原始生殖细胞，在组织切片上无法区分其性别。

2. 性腺分化前期阶段。当鱼苗发育到全长约 9mm 时, 鱼的不同个体的性腺开始分化。一部份鱼的性腺原基发育较快, 细胞数增加, 性腺原基也变得比较大; 而另一部份鱼的性腺原基发育较慢, 细胞数没有增加或增加得很少, 性腺原基仍然较小。这个阶段的分化的标志就在于性腺原基的细胞数增加与否或增加的多少。前一部分鱼大约在其全长从 9mm 到 15mm, 都属这个阶段; 后一部分鱼性腺发育较慢, 从全长 9mm 一直到 25mm 左右都属于这个阶段。从以后性腺发育分化的情况看, 前一部分鱼发育成为雌性个体, 而后一部分鱼则发育成为雄性个体。

3. 性腺完成分化阶段。性腺原基较大, 发育较快的这部分鱼, 从全长 15mm 左右开始, 其性腺细胞就出现了有丝分裂相, 至全长 25mm 时(约孵出后 30 天左右), 完全分化发育为卵巢。而另一部分性腺原基较小, 发育较慢的鱼, 要等全长达到 25mm 时, 它的性腺细胞才开始出现有丝分裂相, 在这以后则逐渐发育分化为精巢。因此这个阶段的起点是不同的, 前者是从孵出 10 天, 全长 15mm 左右时开始, 至孵出后 30 天, 全长 25mm 左右时完成; 而后者却要从孵出后 30 天, 全长 25mm 左右才刚刚开始。

据此, 对于莫桑比克罗非鱼的性诱变实验, 应在性腺分化发育的第一阶段即在鱼全长 9mm 以前进行最为合适, 因为这时性腺尚未分化, 动摇性、可塑性大, 故易于取得成功。当鱼全长达到 9mm 以后, 即性腺发育进入了分化的前期阶段时, 性腺已逐步分化, 可塑性较小, 性的诱变的成功率将会明显下降, 当鱼全长达到 15mm 左右时, 即雌性个体的性腺发育进入完成分化阶段时, 实验基本不可能取得成功, 没有什么实验的意义。因此, 掌握莫桑比克罗非鱼性分化的规律, 对性诱变试验将起指导作用。

### 参 考 文 献

- [1] 邵炳结, 1975. 松江鲈鱼性腺的周年变化. 复旦大学学报(自然科学版)4: 73—82.
- [2] 武汉大学生物系实验鱼类学及养殖实验室、中国科学院水生生物研究所, 1959. 青、草、鲢、鳙鱼性腺及其相关器官组织生理学的研究. 武汉大学自然科学学报(生物专号)7: 43—76.
- [3] Hiromasa Yoshikawa and Mikio Oguri, 1978. Sex Differentiation in a Cichlid, *Tilapia Zillii*. 日本水产学会志. 44(4): 313—318.
- [4] Dadzie, S., 1969. Spermatogenesis and the Stages of Maturation in the Male Cichlid Fish *Tilapia mossambica*. *J. Zool.*, (London), 159: 399—403.
- [5] Hoar, W. S.; Randall, D. J., 1969. *Fish Physiology*, Academic Press, 3: 142—150.
- [6] Межвин, Ф. И., 1978. Развитие половых желез в раннем онтогенезе обыкновенного окуля *Percu fluviatilis* L., *ВОПРОСЫ ИХТИОЛОГИИ* 18(1): 80—100.

## SEX DIFFERENTIATION AND DEVELOPMENT IN A CICHLID, *TILAPIA MOSSAMBICA* PETERS

Chen Yulin    Hu Xiumin    and    Zhu Yazhu  
(Shanghai Fisheries Institute)

### Abstract

This report describes the development, differentiation and maturation of the gonad

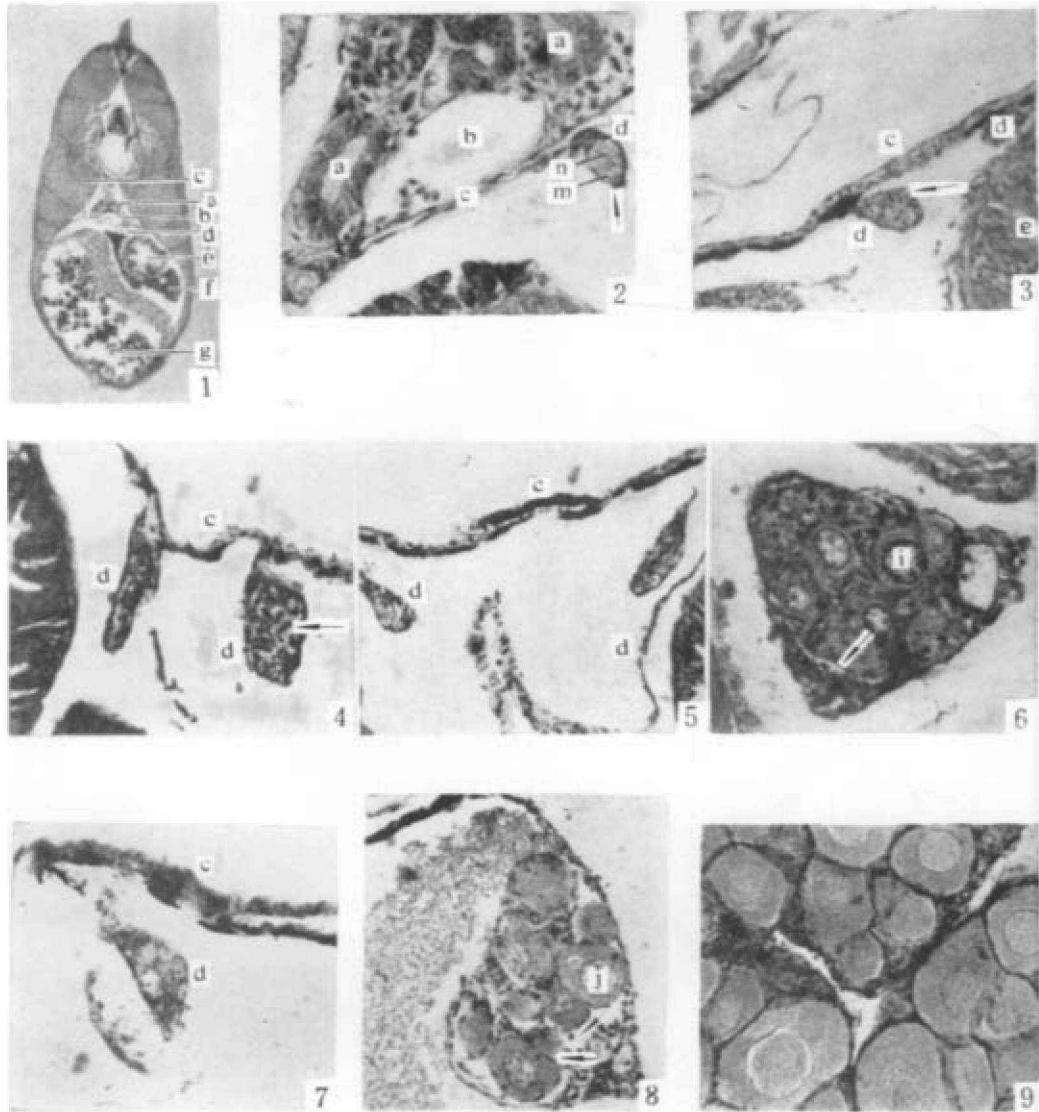
in *Tilapia mossambica*. Through histological studies, mainly there are three stages can be divided.

1. The newly hatched fry before the yolk sac is absorbed, there are only a few primordial germ cells observed at the root of coelomic membrane between the mesonephric duct, dorsal aorta and the gut.

2. Sex remains undifferentiated 10 days after hatching, and when the fry attains 9 mm in total length, the gonadal anlage usually differentiated into two types. The broad ones develop more rapidly, and contain many germ cells, some of which show mitotic phase. The other is small and narrow, which contains only 2 or 3 germ cells without any mitotic phase.

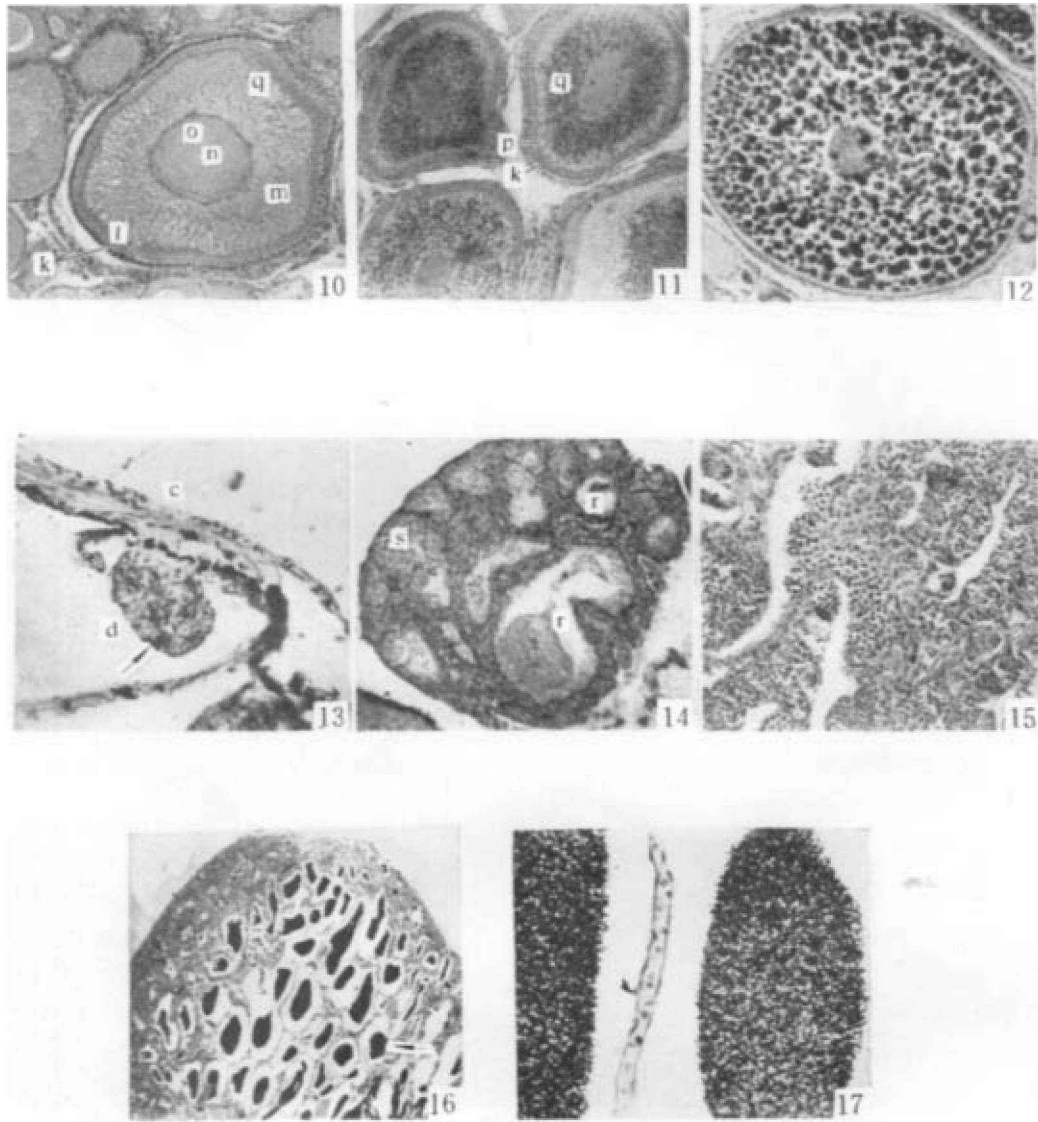
3. At the stage of 30 days after hatching, when the fry attains to 25 mm in total length, the germ cells of the large gonadal anlage enter into the early oocyte stage and further develop to form ovary. While the germ cells of the small gonadal anlage just begin to enter the mitotic phase, they will develop into testis later. So that the differentiation of the testis is about 20 days later than that of the ovary. The ovary and the testis mature at the stage of 90 days after hatching.

For the purpose of sex inducement in *Tilapia mossambica*, it is suggested that the process is better to operate before the fry reaches to the length of 9 mm, and so the success may be more reliable.



图版 I

1. 莫桑比克罗非鱼幼鱼的横断面；
  2. 1的放大，箭头示包围在性腺原基外的扁平细胞；
  3. 全长 13mm 鱼苗的大型性腺原基，箭头示血管壁中3—4个血球；
  4. 全长 15mm 鱼苗的大型性腺原基，箭头示有丝分裂相；
  5. 全长 15mm 鱼苗的小型性腺原基；
  6. 全长 19mm 鱼苗的大型性腺，箭头示卵母细胞；
  7. 全长 19mm 鱼苗的小型性腺；
  8. 全长 25mm 鱼的大型性腺，箭头示细胞膜外附着数个扁平长形核；
  9. 全长 75mm 鱼的 II 期卵巢；
- a. 中肾管 b. 背大动脉 c. 体腔膜 d. 性腺原基 e. 肠管 f. 肝脏 g. 卵黄囊 h. 背大动脉管腔中的血球 i. 配丝期卵母细胞 j. 稚龄时相的卵母细胞 m. 细胞质 n. 细胞核



图版 II

- 10. 全长 75mm 鱼的 III 期卵巢;
  - 11. 全长 105mm 鱼的 III 期末卵巢;
  - 12. 全长 105mm IV 期卵巢, 示卵母细胞中充满卵黄颗粒;
  - 13. 全长 25mm 鱼的小型性腺, 箭头示有丝分裂扣;
  - 14. 全长 75mm 鱼的 III 期精巢;
  - 15. 全长 105mm 鱼的 IV 期精巢, 示初级精母细胞、次级精母细胞、精子细胞;
  - 16. 全长 105mm 鱼的 V 期精巢, 箭头示精巢的囊腔中充满着密集的精子;
  - 17. V 期精巢囊膜的放大, 示囊腔中密集重叠的精子;
- c. 体腔膜 d. 性腺原基 k. 二层滤泡膜 l. 卵黄膜 m. 细胞质 n. 细胞核 o. 核仁 p. 液泡  
q. 卵黄颗粒 r. 壶腹中央的空腔 s. 初级精母细胞