

文章编号:1000 - 0615(2004)05 - 0487 - 06

## 施氏鲟卵巢发育的组织学观察

曲秋芝<sup>1</sup>, 孙大江<sup>1</sup>, 王丙乾<sup>1</sup>, 马 建<sup>2</sup>

(1. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070;

2. 东北林业大学野生动物资源管理学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

**摘要:**对人工养殖施氏鲟卵巢发育的不同时期(1~8龄)进行了组织学观察,结果表明:1龄施氏鲟处于性分化早期,卵巢中卵原细胞形成增殖团;2~3龄鱼卵巢为I期,第1时相的初级卵母细胞直径10~60 $\mu\text{m}$ ,核大,位于细胞中央,染色质均匀分布;4~5龄卵巢为II期,第2时相小生长期的初级卵母细胞直径60~200 $\mu\text{m}$ ,核内含有7~26个核仁;6~7龄卵巢为III期,第3时相大生长期的初级卵母细胞直径200~1600 $\mu\text{m}$ ,卵母细胞内出现脂肪滴、卵黄颗粒和色素颗粒。细胞膜有完整的3层结构。8龄卵巢为IV期,第4时相晚期初级卵母细胞直径1600~3300 $\mu\text{m}$ ,细胞核膜消失,核仁溶解,核由中心向动物极受精孔移动;V期卵巢的第5时相生殖细胞为成熟的卵细胞,直径3400~3750 $\mu\text{m}$ ,从滤泡膜中释放到体腔内;VI期为产卵后的卵巢,以第2时相的卵母细胞为主。根据研究结果推测,施氏鲟卵巢再次成熟的周期为3~4年。

**关键词:**施氏鲟;卵巢发育;组织学

中图分类号:S917

文献标识码:A

## Histological observations on the ovarian development of *Acipenser schrenckii*

QU Qiu-zhi<sup>1</sup>, SUN Da-jiang<sup>1</sup>, WANG Bing-qian<sup>1</sup>, MA Jian<sup>2</sup>

(1. Heilongjiang River Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Harbin 150070, China;

2. College of Wildlife Resources, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

**Abstract:** The process of ovarian development in artificially-bred Amur sturgeon(1 - 8 years old) was investigated histologically. It shows that in fish one year old, ovarian was made up of a lot of oogonium clusters and two or three years old, germ cells of phase I ovary was primary gonocyte stage(10 - 60 $\mu\text{m}$ ) or chromatin stage and had a large nucleus occupying the greater part of oocyte. The germ cells of phase II ovary in four or five years were early growth period oocyte (60 - 200 $\mu\text{m}$ ) or perinucleolus stage and had 7 - 26 nucleolus in them and phase III ovary in six or seven years were middle growth period oocyte I(200 - 1600 $\mu\text{m}$ ). In this stage, oil droplets, yolk and pigment granules appeared at the periphery of the nucleus in a cytoplasm. The cell membrane had complete three layers. The germ cells of phase IV ovary in eight years were late period oocytes I(1600 - 3300 $\mu\text{m}$ ). The nuclear membrane disappeared and the nucleus dissolved. Oocytes at the most advanced stage had the nucleus moving to the micropylar region of the animal pole. The germ cells of phase V ovary were ripe

收稿日期:2003-06-23

资助项目:科技部“十五”科技攻关计划(2001BA5050506)

作者简介:曲秋芝(1957 - ),女,黑龙江哈尔滨人,研究员,从事鱼类生殖生理学研究。Tel:0451 - 84861424, E-mail:quqizhi@163.com

通讯作者:孙大江(1955 - ),男,江苏南京人,研究员,从事鱼类养殖与生态学研究。Tel:0451 - 84607274, E-mail:sundajiang0451@sohu.com

oocytes (3400 - 3750 $\mu\text{m}$ ) and were released from follicle to body cavity. After spawning, the phase 2 ovum, so results show that the cycle of ripe ovum again is about three or four years.

**Key words:** *Acipenser schrenckii*; ovarian development; histology

施氏鲟 (*Acipenser schrenckii*) 隶属鲟形目 (Acipenseriformes), 鲟科 (Acipenseridae), 鲟属 (Acipenser), 是黑龙江特产和重要的经济鱼类之一, 属淡水定居种类。近年来, 随人工养殖技术的提高和完善, 施氏鲟已成为国内主要的鲟鱼养殖种类<sup>[1]</sup>, 人工养殖的亲鱼群体已逐渐形成, 并成功地进行了全人工繁殖<sup>[2]</sup>。有关施氏鲟的人工繁殖、胚胎发育及养殖技术等方面研究较多<sup>[1-3]</sup>, 而对性腺发育组织学方面研究尚未见报道。本文在研究施氏鲟性腺动态发育的过程中, 利用组织学研究手段对其卵巢进行了详细的观察, 旨在掌握施氏鲟卵巢发育及形态学变化特点, 为养殖过程中的亲鱼培育、催情、采卵等工作提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

研究用鱼是饲养在中国水产科学院鲟鱼繁育技术工程中心的 1~8 龄施氏鲟, 其养殖的周年水温 1~28 $^{\circ}\text{C}$ 。每龄鱼解剖 5~10 尾, 取卵巢, 并记录鱼体重量、性腺外部形态及卵径大小。

### 1.2 方法

卵巢用 Bouin 氏液固定, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋。同时用松油醇透明, 石蜡包埋。切片厚度为 4~8 $\mu\text{m}$ 。火棉胶涂膜, 苏木素-伊红染色。显微镜下观察、测量 (包括计数)。卵巢发育的分期依据, 采用苏联学者<sup>[4]</sup>和孙大江等<sup>[1]</sup>提出的分期标准, 把卵巢发育分为 1~5 期。卵巢发育各期的界定, 是以在卵巢切片中所占面积超过 50% 的生殖细胞的时相为准。

## 2 结果

### 2.1 性分化早期卵巢和精巢组织学观察

在性分化早期 (1 龄), 性腺很小, 呈透明的细线状, 肉眼无法分辨精巢或卵巢。光学显微镜下切片观察, 可见精巢和卵巢呈不同的形态结构, 性腺生殖上皮向内凹陷, 纵向与性腺长轴平行形成沟槽, 切面呈深度凹陷或锯齿状结构, 生殖上皮由一层或两层柱状细胞构成, 柱状细胞下是进行有丝分裂的卵原细胞增殖团, 此结构为卵巢原

基<sup>[4,5]</sup> (图版-1,2)。相反没有这种结构且性腺生殖上皮表面光滑饱满, 生殖细胞群位于性腺的内部, 这种形态结构的性腺是精巢<sup>[5-7]</sup> (图版-3,4)。

### 2.2 卵巢发育各期的组织学观察

第一期卵巢 (2~3 龄) 卵巢呈白色半透明窄带状与脂肪组织相近, 肉眼仍不能分辨精巢或卵巢。显微镜下切片观察, 卵巢中的生殖细胞是以第 1 时相的卵原细胞为主, 细胞质很少, 细胞直径在 10~60 $\mu\text{m}$ , 最小的卵原细胞直径 10 $\mu\text{m}$ , 细胞核直径 7.5 $\mu\text{m}$ , 细胞核大占据了卵原细胞的大部分体积, 核直径为 7.5~38.5 $\mu\text{m}$ , 核内染色质呈丝状均匀分布, 又可称染色质核期。随着卵原细胞的发育, 细胞质渐渐增多, 并表现了明显的嗜碱性和苏木精染色易着色性。卵原细胞分布在卵巢表层组织结构中 (图版-5,6)。

第二期卵巢 (4~5 龄) 卵巢乳白色中略见淡淡黄色, 肉眼可见半透明状针眼大的卵粒, 低倍光镜下能见到丰富的脂肪组织包裹着卵巢, 卵巢表面分布着大小不同的卵。切片观察, 卵巢组织内也有大量的脂肪, 占卵巢整体的大部分。卵巢中的生殖细胞是以第 2 时相的初级卵母细胞小生长期的细胞为主, 细胞呈多角圆形, 初级卵母细胞直径为 60~200 $\mu\text{m}$ , 细胞质增多并呈嗜碱性, 核也相应增大, 核直径为 38.5~82.5 $\mu\text{m}$ , 核仁 (7~26 个) 靠近核膜内侧环形分布, 也可称为外周核仁期<sup>[8]</sup>。部分细胞质可见到网状结构。初级卵母细胞外面已有滤泡膜。随着初级卵母细胞的生长发育, 细胞质的嗜碱性减弱, 少部分初级卵母细胞很大, 卵径在 400 $\mu\text{m}$  左右 (图版-7,8)。

第三期卵巢 (6~7 龄) 卵巢有浅灰色和深褐色两种, 表面分布着浅灰色或深褐色卵粒, 卵巢组织内仍有大量的脂肪。卵巢内生殖细胞是以第 3 时相进入大生长期的初级卵母细胞为主, 可以分为早、中、晚 3 个相的发育阶段。初级卵母细胞的早期, 细胞直径在 200~500 $\mu\text{m}$  之间, 细胞质占细胞体积的大部分, 嗜碱性减弱, 细胞质有颗粒物质并形成环层, 脂肪滴出现在核的外周。核仁数量明显增加 (29~35 个), 核膜内侧环形排列, 与细胞质相比核已小得多了 (图版-9)。中期, 卵细

胞直径在 500 ~ 900  $\mu\text{m}$ , 细胞膜有完整的 3 层结构, 卵黄颗粒在细胞质外环出现, 脂肪滴数量增加并向细胞质外环移动, 卵巢中卵细胞进行有丝分裂, 数量大大增加(图版-10, 11)。晚期, 细胞直径为 900 ~ 1600  $\mu\text{m}$ , 细胞为椭圆形, 随着卵细胞的生长发育, 核仁数量迅速增加(200 ~ 400 个), 同时卵黄颗粒的数量也在增加, 卵黄颗粒体积加大成为卵黄小体, 分布于细胞质的大部分区域, 由卵黄颗粒的分布使细胞质分成 5 层, 靠近细胞膜和核的 2 窄层为无卵黄颗粒分布层, 靠这 2 窄层的 2 层是小颗粒层, 中间是大颗粒层, 细胞质最外层出现色素颗粒(图版-12)。

**第 期卵巢(8 龄)** 卵巢灰黑色, 体积很大, 卵巢重是亲鱼体重的 15% ~ 20%。卵巢内生殖细胞是以第 4 时相发育晚期的初级卵母细胞为主, 细胞体积增大, 长轴直径为 1600 ~ 3300  $\mu\text{m}$  左右。根据卵母细胞直径的大小和核偏移的情况, 发育晚期的初级卵母细胞又可划分为早、中、晚 3 个发育阶段。早期, 卵母细胞长轴为 1600 ~ 2000  $\mu\text{m}$ , 细胞质分 5 层, 卵黄小体聚集成卵黄小板和大的脂肪滴分布在中间层, 并偏向长轴的一侧, 靠细胞膜的小卵黄颗粒层内出现色素颗粒, 核位于中心, 核膜消失, 核仁移向中央, 均匀分布并被无卵黄颗粒的细胞质环绕(图版-13)。中期, 卵母细胞长轴为 2000 ~ 2600  $\mu\text{m}$ , 细胞核开始由中央直接呈三角形状移向动物极, 不含卵黄的细胞质也随着卵核向受精孔方向移动, 卵母细胞进入成熟期。细胞质的 5 层分布消失, 卵黄小板和脂肪滴集中在细胞质外周和植物极, 卵黄颗粒和脂肪滴充实了卵母细胞的大部分体积(图版-14)。晚期, 卵母细胞长轴为 2600 ~ 3300  $\mu\text{m}$ , 核仁完全溶解在核浆中, 核向动物极的卵膜靠近(图版-15)。

卵膜在切片上可见 3 层结构。卵膜外附着薄膜状, 松散起伏不平的是滤泡膜。卵膜最外层为胶膜或蜂窝膜, 中间为卵黄外膜, 里侧是卵黄内膜。3 层膜都有相对应的辐射纹, 卵黄内膜很薄, 与卵黄外膜紧密结合。3 层卵膜中最厚的是胶膜, 卵黄外膜较胶膜略薄, 卵黄内膜最薄。晚期的初级卵母细胞的卵膜, 较大生长期的初级卵母细胞的卵膜明显增厚, 约 35 ~ 40  $\mu\text{m}$ (图版-16, 17)。

**第 期卵巢(8 龄)** 卵巢松软, 成熟卵细胞从滤泡膜内释放, 直接落入腹腔。施氏鲟成熟卵细胞呈椭球形, 有长轴和短轴, 长轴 3.4 ~ 3.72

mm、短轴 3 ~ 3.16mm, 每粒卵重约 0.022g, 卵黑灰色。动物极顶端有一浅色亮点, 为极斑, 极斑被深浅相间的环所环绕, 为极环。卵的极环到极斑约占卵体的 1/3<sup>[9]</sup>。第 5 时相的卵母细胞, 是由初级卵母细胞经过第一次成熟分裂成为次级卵母细胞, 进而发育到第二次成熟分裂中期的成熟卵细胞, 细胞核呈一团的核质状, 卵细胞的原生质集中在核周围, 形成胚盘原基, 并接近受精孔。细胞膜的辐射纹消失(图版-18)。

**第 期卵巢** 卵巢松弛, 充血, 呈红色或紫红色。卵巢内除少量残留第 4 时相卵母细胞外, 主要为第 2 时相的初级卵母细胞、大量的空滤泡和发达的结缔组织。

### 3 讨论

#### 3.1 卵巢发育成熟时间与周期

大多数硬骨鱼性成熟是在 3 ~ 5 龄, 大部分鲟科鱼类雌性成熟在 9 ~ 17 龄<sup>[9]</sup>。首次产卵后, 硬骨鱼的卵巢发育周期是 1 年, 鲟科鱼类卵巢发育周期为 3 ~ 6 年<sup>[8]</sup>。自然水域中的施氏鲟雌性成熟在 9 ~ 13 龄<sup>[10]</sup>, 人工养殖的施氏鲟雌性成熟年龄为 8 龄。施氏鲟首次产卵后, 卵巢发育周期没有报道。从卵巢组织结构分析, 第 期卵巢内的卵母细胞主要是第 时相的初级卵母细胞, 从第 2 时相的初级卵母细胞发育到成熟卵细胞需要 3 ~ 4 年的时间, 推测卵巢发育周期为 3 ~ 4 年。Stearn 等指出, 鱼类性成熟的年龄和成熟时躯体的大小并非固定, 而是具有一定的可塑性<sup>[11]</sup>。生长状况良好的雌雄个体均有可能提前 1 ~ 2 年性成熟。在同一种群中鱼类性成熟年龄的变异有可能来自遗传的差异<sup>[12]</sup>, 也可能来自环境的影响<sup>[13]</sup>。Wootton 指出, 当环境的变化使生长率增高时, 所产生的效应通常是使性成熟年龄提前<sup>[14]</sup>。施氏鲟性成熟情况与这一规律相符。

#### 3.2 卵膜结构与生理功能

和大多数硬骨鱼类一样, 施氏鲟卵膜结构的变化与卵母细胞内营养物质的积累密切相关。第 2 时相卵母细胞的早期薄膜之上, 出现由一层细胞构成的滤泡膜。第 3 时相卵母细胞的早期细胞膜增厚构成卵黄外膜, 并无放射纹(管道)。随着卵母细胞的进一步发育, 其厚度也逐渐增加。中期, 卵黄外膜外, 由滤泡细胞突起形成胶膜层也称蜂窝层, 细胞质突起变细, 伸入卵黄外膜内形成放

射管道,并构成卵黄内膜,完成了胶膜、卵黄外膜和卵黄内膜等3层卵膜结构。膜上具有众多纵向分布的微管而形成放射带,一般认为放射带是由卵母细胞和滤泡细胞的微绒毛及细胞膜突起互相伸入共同形成的,卵母细胞通过这层膜与外界进行物质和信息交换<sup>[15]</sup>。第5时相的成熟卵细胞从滤泡膜内释放后,卵膜的放射管道消失。

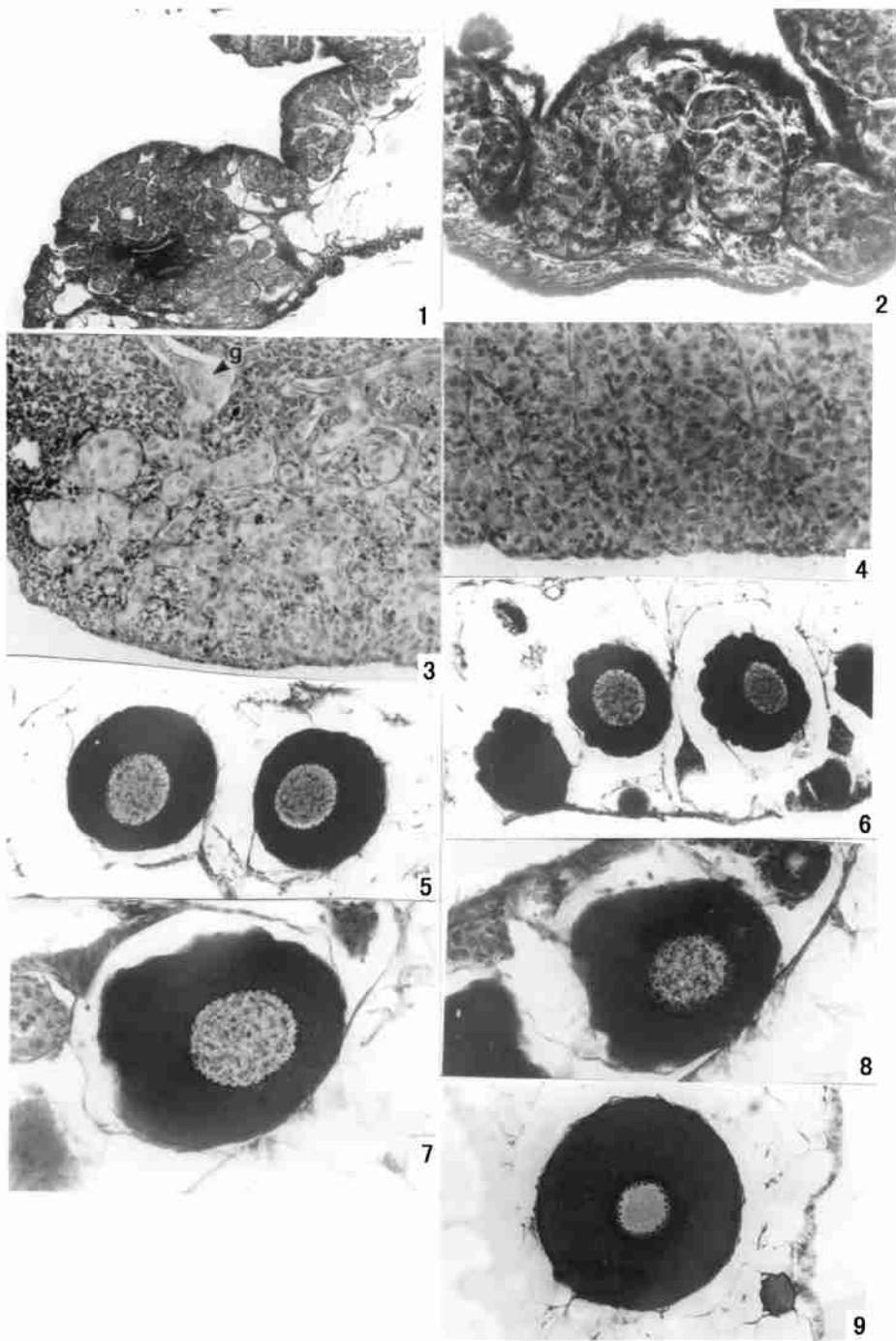
卵膜形态的差异也反映出鱼类对不同生态环境的适应性<sup>[16]</sup>。施氏鲟的成熟卵具有粘性与其卵膜结构有关,卵膜的最外层也称蜂窝层,排卵遇水后可分泌大量粘液蓄集在蜂窝内,同时蜂窝层膨胀,卵细胞直径增加0.06~0.15mm<sup>[17]</sup>,卵可吸附到物体上。

### 3.3 卵的特点

在鲟鱼卵的细胞质中存在有孤立的卵黄颗粒与分散的脂肪,这与两栖类的卵很接近,相反,却与大多数硬骨鱼类的卵不同,大多数硬骨鱼的卵,在卵子发生结束时,单个的卵黄成份融合成一大块卵黄,小的脂肪滴融合成大的脂肪滴<sup>[9]</sup>。

### 参考文献:

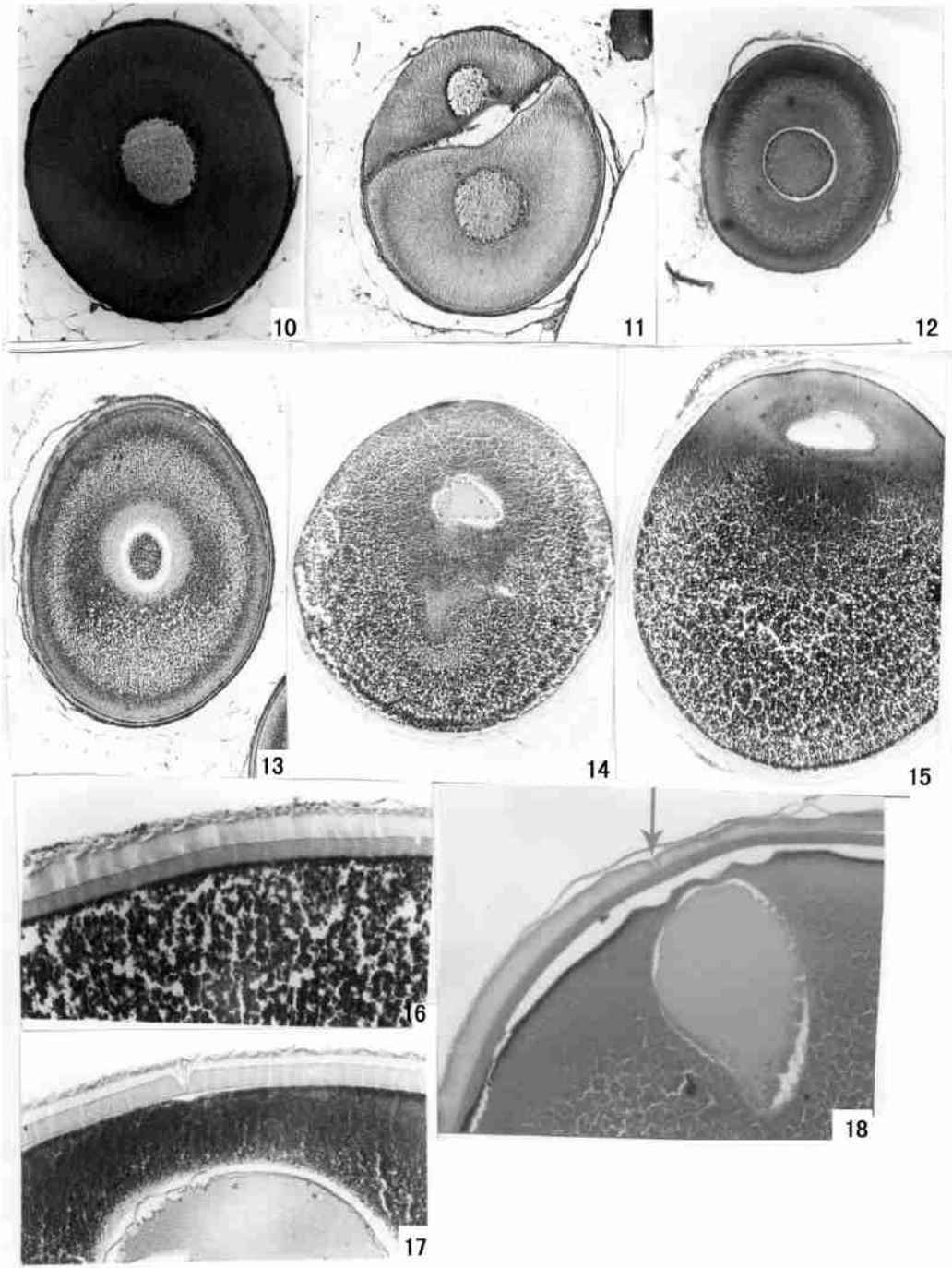
- [1] Sun D J, Qu Q Z, Wu W H, *et al.* The technology of reproduction and cultured *Acipenser schrenckii* [M]. Beijing: Ocean Press, 2000. 12 - 16. [孙大江, 曲秋芝, 吴文化, 等. 史氏鲟人工繁殖及养殖技术[M]. 北京: 海洋出版社, 2000. 12 - 16.]
- [2] Qu Q Z, Sun D J, Ma G J, *et al.* A note report on artificial reproduction of Amur sturgeon *Acipenser schrenckii* [J]. J Fish Sci China, 2002, 9(3): 277 - 279. [曲秋芝, 孙大江, 马国军, 等. 施氏鲟全人工繁殖研究初报[J]. 中国水产科学, 2002, 9(3): 277 - 279.]
- [3] Lu H B, Song S X, Sun D J, Embryonic and larval development of Amur sturgeon *Acipenser schrenckii* [J]. J Fish Sci China, 2000, 7(3): 5 - 7. [刘洪柏, 宋苏祥, 孙大江, 等. 施氏鲟的胚胎及胚后发育研究[J]. 中国水产科学, 2000, 7(3): 5 - 7.]
- [4] T A, A C. Embryonic development and culture of sturgeon *Acipenser* [M]. Beijing: Science Press, 1958. 26 - 46. [张贵寅, 赵尔宓译. 鲟鱼类的胚胎发育与其养殖问题[M]. 北京: 科学出版社, 1958. 26 - 46.]
- [5] Naotaka O, Mamoru M, Koji Y, *et al.* Histological observations of gonadal sex differentiation in the F<sub>2</sub> hybrid sturgeon, the bester [J]. Fisheries Science, 2001, 67: 1104 - 1110.
- [6] Naotaka O, Mamoru M, Koji Y, *et al.* Effects of estradiol-17 and 17-methyltestosterone on gonadal sex differentiation in the F<sub>2</sub> hybrid sturgeon, the bester [J]. Fisheries Science, 2002, 68: 1047 - 1054.
- [7] Mojazi A B, Maebayashi M, Adachi S, *et al.* Testicular development and serum sex steroid profiles during the annual sexual cycle of the males turgeon hybrid [J]. J Fish Biol, 1996, 48: 1039 - 1050.
- [8] Mojazi A B, Maebayashi M, Hara A, *et al.* Ovarian development and steroid and vitellogenin profiles in the female cultured sturgeon hybrid, the bester [J]. J Fish Biol, 1996, 48: 1164 - 1178.
- [9] M B B. 魏青山译. 鲟鱼养殖 [M]. 武昌: 华中农业大学水产系, 1986. 3 - 16.
- [10] Xiao H, Lin X T, Liang X F. The technology of cultured *Acipenser* [M]. Guangzhou: Guangdong High Education Press, 2000. 159 - 176. [肖慧, 林小涛, 梁旭方. 鲟鱼人工养殖技术 [M]. 广州: 广东高等教育出版社, 2000. 159 - 176.]
- [11] Stearn S C, Cradall R E. Plasticity for age and size at sexual maturity: a life-history response to unavoidable stress [M]. In Fish Reproduction: Strategies and Tactics (G. W. Potts and R. J. Wootton, eds) [A]. London: Academic Press, 1984, 99: 13 - 33.
- [12] Alm G. Connection between maturity size and age in fishes [J]. Rep Inst Freshwat Res. Dordtningholm, 1959, 40: 5 - 45.
- [13] Pitt T K. Changes in abundance and certain biological characters of Grand Bank American plaice, *Hippoglossoides plasseoides* [J]. Fish Res Bd Can, 1975, 32: 1383 - 1389.
- [14] Wootton R J, Reproduction in ecology of teleost fishes [M]. London Chapman and Hall Ltd, London, 1993, 99: 159 - 195.
- [15] Shi Q F. The study progress of gonadal development in fish [J]. Acta Hydrobiol Sin, 1988, 12(3): 248 - 258. [施琼芳. 鱼类性腺发育研究新进展 [J]. 水生生物学报, 1988, 12(3): 248 - 258.]
- [16] He D K, Chen Y F, Cai B. Histological studies on the gonadal development of an endemic Tibet fish *Gymnocypris namensis* [J]. Acta Hydrobiol Sin, 2001, 25(1): 1 - 13. [何德奎, 陈毅峰, 蔡斌. 纳木错裸鲤性腺发育的组织学研究 [J]. 水生生物学报, 2001, 25(1): 1 - 13.]
- [17] Qu Q Z, Sun D J, Wang B Q, *et al.* Scanning electron microscopic observation on sperm penetration in of *Acipenser schrenckii* [J]. J Fish China, 2003, 27(1): 1 - 4. [曲秋芝, 孙大江, 王丙乾, 等. 史氏鲟精子入卵过程的扫描电镜观察 [J]. 水产学报, 2003, 27(3): 1 - 4.]



### 图版 Plate

1. 卵巢,卵原细胞增殖, ×200; 2. 卵巢,卵原细胞增殖, ×400; 3. 精巢, ×400; 4. 精巢, ×400; 5. 1时相早期初级卵母细胞, ×200; 6. 1相晚期初级卵母细胞, ×400; 7. 2时相早期初级卵母细胞, ×400; 8. 2时相晚期初级卵母细胞, ×400; 9. 3时相早期卵母细胞, ×200

1. ovarian, oogonium proliferation, ×200; 2. ovarian, oogonium proliferation, ×400; 3. testis at 20 months, ×400; 4. testis at 26 months, ×400; 5. early phase 1 oocyte I, ×200; 6. late phase 1 oocyte I, ×400; 7. early phase 2 oocyte I, ×400; 8. late phase 2 oocyte, ×400; 9. early phase 3 oocyte, ×200



### 图版 Plate

10. 3时相中期卵母细胞,  $\times 200$ ; 11. 3时相中期卵母细胞分裂,  $\times 400$ ; 12. 3时相晚期卵母细胞,  $\times 100$ ; 13. 4时相早期卵母细胞,核膜在逐渐溶解,  $\times 100$ ; 14. 4时相中期卵母细胞,核向动物极运动时,  $\times 100$ ; 15. 4时相晚期卵,  $\times 100$ ; 16. 卵膜,  $\times 400$ ; 17. 受精孔及膜,  $\times 200$ ; 18. 5时相卵的精孔,  $\times 200$

10. middle phase 3 oocyte I,  $\times 200$ ; 11. middle phase 3 oocyte I cell division,  $\times 400$ ; 12. late phase 3 oocyte I,  $\times 100$ ; 13. early phase 4 oocyte I, nuclear membrane dissolve,  $\times 100$ ; 14. middle phase 4 oocyte I, nucleus moving to the animal pole,  $\times 100$ ; 15. late phase 4 oocyte I,  $\times 100$ ; 16. ova membrane,  $\times 400$ ; 17. micropyles of the ova and ova membrane,  $\times 200$ ; 18. phase 5 ripe ova,  $\times 200$