

香鱼卵巢发育的组织学研究*

龚启祥

(浙江水产学院)

曹克驹 曾贇

(华中农学院)

提 要

本文根据在天然水域中各个不同发育阶段香鱼卵巢的组织学观察资料,对香鱼卵膜结构、第2时相卵母细胞中出现的透明层、核仁排出物在卵黄形成中的作用以及受精孔形态等问题作了描述和探讨。并对香鱼性周期内卵巢发育和产卵类型等问题作了说明。

前 言

香鱼 *Plecoglossus altivelis* T. et S. 是小型名贵经济鱼类。具有生长快、繁殖周期短、适温范围广,食物链短等特点。它既能在淡水中肥育,又能在海水中生活,即使在淡水中刚孵化的仔鱼也可立即在海水中生活^[1]。所以香鱼是水库、河川、溪流、内陆湖泊以及沿海港湾等很理想的增、养殖品种。

对鱼类生殖机制及繁殖方式的了解,是为最大限度地开发国家渔业资源的一个基本条件。Yoshiharu Honma (1961)对产卵后幸存香鱼卵巢中未产出卵的退化及新的卵母细胞形成等问题作了些研究^[20]; Suzuki (1939)就证实了陆封种香鱼的产后卵巢中确实存在着新产生的早期卵母细胞^[20]。然而,香鱼卵巢在性周期中的变化及其产卵类型等问题,至今还未见报导。本文研究主要为香鱼人工繁殖提供些资料。

材 料 和 方 法

本工作是在1979—1981年间进行的。试验用的香鱼性腺采自浙江宁海的鳧溪近入海处的淡水天然水域中,共得标本473尾,其中雌的330尾、雄的143尾。卵巢用蒲翁氏液(Bouin's solution)固定,石蜡包埋,切片厚度为8微米,用Delafield氏苏木精—伊红染色并作显微摄影。

在确定卵巢发育分期时,以各种时相卵母细胞的体积在卵巢中所占的比例为依据,即在卵巢切面中的面积超过50%或居最高比例的卵母细胞的时相来决定卵巢时期^[21]。卵

* 本文承中国科学院武汉分院施琰芳副教授指导并审阅初稿,深致谢忱。浙江水产学院李明云同志提供部分试验材料,华中农学院严安生同志参加部分切片工作,在此一并致谢。

母细胞时相的划分,基本上采用 Mehen (1939)的分期原则。为了计算各时相卵母细胞在卵巢切面上所占面积的比例,先统计出各时相卵母细胞的平均面积,再算出 10 个不同视野的各时相卵母细胞所占面积的比例,然后求其平均值,从此得出该期卵巢中各时相卵母细胞所占面积之比例。

主要结果

(一) 卵母细胞发生

香鱼卵巢为裸卵巢型。第 I 期,卵巢未分小叶;发育至第 II 期时,每侧卵巢各自分成许多小叶,各种不同时相的卵母细胞是由伸入到卵巢小叶中的生殖上皮细胞分生、发育而来的。

1. 第 1 时相卵母细胞 在第 I 期卵巢中,由生殖上皮细胞分生而来的卵原细胞仍依附在生殖上皮中,其大小不一,在卵巢切面中往往仅见其细胞核。第 1 时相卵母细胞即由这些卵原细胞停止分生而成,它们离开生殖上皮成群地分布在卵巢基质中。其细胞形态不规则,有梨形、椭圆形等(图 I, 1), 卵径 18.0—20.0 微米,胞质被染成浅紫色。核呈圆球形,核径为 11.0—14.0 微米,核中有 1—2 个大而染色深的核仁,此外尚有呈细粒状的染色体残迹。

2. 第 2 时相卵母细胞 香鱼卵巢处在第 II 期发育阶段历时较长,2 时相卵母细胞的形态变化也大,可以分成早、中、晚三个阶段:

(1) 早期: 卵母细胞排列紧密,形态不一,多数呈多角形、少数为卵圆形。细胞质及细胞核较前期都有明显增长,其卵径为 21.0—44.0 微米、核径约 11.0—30.0 微米。细胞核透亮,核中染色体逐渐解散,但仍可看到呈细丝状残迹。核中核仁大小不一,大的核仁其直径可达 2.1—4.3 微米,在一个切面上有 2—4 个,一般位于核膜内缘;小的核仁数量较多约 10—24 个,一般居于核质内(图 I, 2)。胞质显嗜碱性,成细颗粒状分布。胞质中常见 1 个着色很深的块状结构即卵黄核(图 I, 2 和 12)。整个卵母细胞的外周有一薄层滤泡膜;滤泡细胞扁平状,其核瘦小常不易发现。

(2) 中期: 卵母细胞排列仍紧密,一般呈卵圆形,卵径为 22.0—57.0 微米、核径为 15.0—38.0 微米,核质嗜碱性明显增强,在核膜内缘存在着 5—15 个大小不等的较大核仁。胞质中均匀地分布着被 H.E. 法染成紫色的微细颗粒,呈强的嗜碱性(图 I, 3)。在细胞核外周出现一围绕核的透明层,该透明层以一原生质膜同细胞质分开(图 I, 3),透明层内物质密度很稀,显得透亮,其厚度约 1.0—14.2 微米。细胞膜之外的单层滤泡膜明显变厚。

(3) 晚期: 卵母细胞排列松散,一般呈圆球形,卵径约 40.0—90.0 微米。这时细胞核迅速膨大,核周围的透明层变薄渐消失(图 I, 4),于是核径明显扩大可达 22.0—62.0 微米,整个卵核成透亮的囊泡状。随着卵核膨大,一些核仁物质离开卵核进入卵细胞质内(图 II, 32—36)。胞质中出现许多呈网状分布的纤维结构,在网眼中仍有许多被苏木精染成深紫色的微细颗粒。

3. 第 3 时相卵母细胞 这期所经历的时间比较短暂,早期在胞质的皮质部分出现一层

松散排列、大小不一的液泡，以后液泡数目不断增加，从一层、两层到数层(图 I, 5—7)，其直径可达 5.0—29.0 微米。在液泡中，均匀地分布着被苏木精染成浅紫色的内含物，一般认为是粘多糖类物质。随着卵母细胞的发育，以后液泡不断变小。在 3 时相卵母细胞发育过程中，其卵径从 114.0 微米增加到 214.0 微米。胞质显弱嗜碱性。3 时相晚期，胞质的皮质部分首先出现一些被 H. E. 法染成紫红色的卵黄颗粒(图 I, 14)，以后卵黄颗粒渐增多，广泛分布于液泡之间的细胞质中。与此同时，在卵黄颗粒之间出现一些细小的油滴(图 I, 15)。在 H. E. 法染色中，小油滴成细小的空泡。细胞核近圆球形，位于卵母细胞中央，核径为 60.0—85.0 微米，核膜略呈波纹状，在核膜内缘存在着十几个到数十个(14—33 个)不等的细小核仁，一般未见粗大核仁存在。随着卵母细胞的不断增大，卵膜也渐加厚达 4.1—7.0 微米，其层数也逐渐添多。在 3 时相早期，滤泡膜已有两层，松散地包在卵母细胞外周，在滤泡膜中可清楚地见到其长梭形的细胞核。这时在卵细胞膜外周，首先出现一层被苏木精染成深紫色的附着膜(图 I, 13)。在 3 时相中后期，在附着膜与卵细胞膜之间，由卵细胞膜向外形成一薄层被 H. E. 法染成浅火红色的放射带(卵黄膜)(图 I, 14)。放射带形成后，附着膜迅速加厚达 2.8—3.6 微米。在附着膜上可以见到被苏木精染成深紫色的条纹，这些条纹相互间平行排列，但与卵表面之切线相垂直，即整个附着膜显露出成明暗相间排列的横纹结构。但这时放射带上的条纹还没有看到。

4. 第 4 时相卵母细胞 这时相的卵母细胞由于卵黄的激剧增加，个体便快速加大。按细胞大小及其形态变化，可以再分成早、中、晚三期：

(1) 早期：卵母细胞呈圆球形，卵径为 200.0—290.0 微米。卵黄颗粒数量迅速增多，但在早期，核周围的细胞质中尚未见到有卵黄颗粒；另外在卵细胞膜的内缘，还有一层细胞质在此集中(图 I, 8)。卵黄颗粒呈圆形或椭圆形，直径约 3.6—10.7 微米。卵细胞质仍显嗜碱性，胞质中除卵黄颗粒外，还有液泡、小油球等结构，它们混杂在一起未见有分层排列的现象(图 I, 16)。细胞核位于卵细胞中央，核径为 48.0—87.1 微米，核膜呈波纹状，在核膜内缘未见粗大核仁。放射带很薄，仅 1.4—2.8 微米，此时仍未见到其放射状条纹。附着膜厚度可达 3.6—6.4 微米，但在同一卵母细胞的切面上，附着膜的厚度、形状明显不同；自柱状逐渐变成立方状，最后成扁平状(图 I, 16)。附着膜上明暗相间的条纹更明显，事实上这较明亮的部分是一小的管道，从卵母细胞表面观即是附着膜上的小孔(图 II, 20)。这样，第 4 时相早期卵母细胞的卵膜结构自内至外的排列是：细胞质膜、放射带、附着膜(图 I, 18)。

(2) 中期：卵母细胞继续增长，卵径达 414.0—485.0 微米。卵黄颗粒已经充满卵细胞质，液泡和油球被挤压到细胞周边的胞质中(图 II, 19)。这时液泡明显缩小，在体积上往往不易与油球相区分。香鱼卵母细胞中的油球没有聚合现象，一直成分散状态。细胞核仍位于中央，核径约 34.4—90.0 微米，核膜仍为波纹状。放射带的厚度为 2.0—4.0 微米，附着膜厚薄更不均匀，最厚处可达 10.0 微米左右，而且这时附着膜不能包裹整个卵母细胞，仅包住卵母细胞表面的 $\frac{1}{2}$ — $\frac{2}{3}$ ，其余 $\frac{1}{2}$ — $\frac{2}{3}$ 的卵母细胞表面失去附着膜(图 I, 16)。这时卵母细胞的三层卵膜的总厚度已达 7.0—14.0 微米。

(3) 晚期：卵母细胞基本长足，卵径约 462.0—800.0 微米。卵黄颗粒长到其最终大小，呈板块状，其直径为 14.0—21.0 微米，排列松散。胞质中的油球及小液泡大多仍集

中在质膜内缘。核也基本长足,核径达71.0—120.0微米,核膜仍呈波纹状,胞核逐步自中央向动物极移动,整个卵母细胞出现极性(图 I, 10)。放射带也已长足,其厚度达7.0微米左右,放射带上的条纹清晰可见。

5. 第5时相卵母细胞 从卵细胞的发生来看,所谓第5时相卵母细胞,即初级卵母细胞经过第一次成熟分裂变成次级卵母细胞后,接着发育到第二次成熟分裂中期的卵细胞。第5时相卵母细胞核已移到卵细胞一侧即动物极附近,核膜消失仅见其一团核质。卵细胞质也已经集中到受精孔附近,形成胚盘原基(图 I, 11)。卵细胞从其外周的滤泡膜中脱出。香鱼卵细胞上的受精孔在第4时相末到第5时相时才显示出来。受精孔的位置都在其胚盘原基处,附着膜及放射带在此都向卵内陷入,成一漏斗状结构(图 II, 21)。漏斗的上口径可达75.0—90.0微米;在漏斗的底部,附着膜及放射带都减薄,在有的切面上,漏斗底部的附着膜及放射带上可找到精子入卵的通道(图 II, 21, 22)。这时附着膜以受精孔为中心复盖于卵细胞的动物半球,在受精孔附近的附着膜最厚,其厚度可达20.0—25.0微米。在受精孔的漏斗区内,存在着十几个到二十几个数目不等的细胞。这些细胞的形态不规则,直径约9.0—10.0微米;核呈椭圆形,核径为4.0—6.0微米(图 II, 22)。其胞质及胞核都被苏木精染成浅紫色,呈弱嗜碱性。这些细胞似以合胞体的形式,组成一圆锥体将受精孔漏斗处塞住。受精孔的外表面尚有一层薄膜复盖。

表1 香鱼卵巢中各时相卵母细胞概况

卵母细胞时相		卵径(微米)	核径(微米)	核仁数(个)	卵膜厚度(微米)	附着膜厚度(微米)
第1时相		18—20	11—14	1—2		
第2时相	早期	21—44	11—30	2—14		
	中期	22—57	15—38	5—15		
	晚期	37—93	22—62	粗大核仁少见		
第3时相	单层液泡	114—150	44—71	14—33	2—5	很薄
	多层液泡	172—214	60—85	15—40	3.6—7.1	2.8—3.6
第4时相	早期	200—290	43—90	数十个小核仁	5—10	3.6—6.4
	中期	270—485	35—90	数十个小核仁	7—14	4.3—10
	晚期	462—800	71—120	核仁渐少见	14—21	7—14
第5时相		700—830		核仁消散	35左右 (在受精孔附近)	20—25 (在受精孔附近)

(二) 卵巢发育

香鱼的繁殖盛季,在浙江为每年的10—11月,当时水温约14—21°C。仔鱼孵化后入海越冬,第二年4—5月,当河水温度回升至13—17°C时,稚鱼便从海中上溯至河流中,其性腺也逐渐发育,进而完成其生殖周期活动。

1. 雌鱼成熟系数 根据对330尾从幼令至性成熟雌性香鱼的观察,在生殖周期活动中,成熟系数一般变动在0.32%—27.00%之间(表2)。12月至第二年4月的香鱼处在稚

令期,性腺尚未分化,属 I 期性腺。5 月至 6 月其卵巢有的呈细线状,属 I 期;有的呈薄片分叶状,属 II 期,平均体重仅 11.7—12.3 克,体长只 9.5—9.7 厘米(表 2),其性腺重量甚微。7 月—8 月卵巢开始发育,呈分叶状,基本上为 II 期卵巢,成熟系数在 0.32%—0.45%左右。从 9 月开始卵巢迅速发育,成熟系数从 0.45%增加到 3.73%。10 月至 11 月是繁殖旺季,成熟系数达最高值,从 12.3%增加到 27.00%。香鱼能分批产卵,故在繁殖季节产后香鱼的平均成熟系数,仍维持在较高水平(表 2)。

表 2 香鱼卵巢在性周期中的变化*

月 份	卵巢 时期	平均 体重 (克)	平均 卵巢重 (克)	平均 体长 (厘米)	平均 成熟 系数 (%)	主要 卵母 细胞 直径 (微米)	主 膜 厚 度 (微米)	卵 母 细 胞 组 成 (%)												
								个 数 比 例					切片上面积比例							
								1.2 时相	3 时相	4 时相	4 ⁺⁺ 时相	5 时相	萎 缩 卵	1.2 时相	3 时相	4 时相	4 ⁺⁺ 时相	5 时相		
5	I	6.0	未称 重	7.9		18—20		100						100						
	II	11.7	未称 重	9.5		21—44		100						100						
6	II	12.3	未称 重	9.7		18—69		100						100						
7	II	39.7	0.14	16.6	0.32	40—84		100						100						
8	II	42.0	0.20	14.9	0.45	54—93		100						100						
9	III	77.6	0.75	16.7	0.96	130—210	5.7	62.20	34.9					2.90	18.64	81.36				
	IV	79.3	2.82	19.2	3.73	200—485	8.5	39.70	14.20	42.20				3.90	2.39	6.28	90.96			
10	IV ⁺⁺	51.6	6.30	15.1	12.30	460—800	17.6	17.80	8.90	18.60	47.40			7.30	0.44	0.57	6.59	91.72		
	V	62.9	14.69	15.2	27.01	700—830	34.7	15.20	11.50	22.60		45.60	5.10	0.30	0.51	6.61				92.58
	VI—IV	45.6	5.49	15.4	10.88	270—360	12.1	11.50	33.30	49.70		2.00 (未产 出)	3.50	1.04	6.73	63.01				29.23 (未产 出)
11	重复 V'	28.7	6.40	13.4	20.94	640—740	26.7	3.80	9.80	31.60		51.00	3.80	0.06	0.41	8.40				91.13
	重复 VI—IV'	25.6	2.92	13.1	11.08	264—370	17.8	3.80	24.10	65.00		4.20 (未产 出)	2.80	0.27	3.79	66.67				27.46 (未产 出)

* 香鱼繁殖旺季为 10—11 月,仔鱼孵化后即入海越冬;12—4 月是稚鱼期,因其生活在海中,试验材料未采到。

在香鱼繁殖季节如 10 月,卵巢的发育时期,就整个群体来说是比较复杂的,有的为 IV 晚期(IV⁺⁺)、有的达 V 期、有的是产后 VI—IV 期等等。从表 2 中可知,其 V 期卵巢的平均成熟系数最高,达 27.00%; IV⁺⁺ 期卵巢次之,为 12.3%左右;而 VI—IV 期卵巢的成熟系数仅 10.86%,这是因为产后卵巢中的卵母细胞仅处在第 4 时相的早期,卵母细胞中的卵黄未充满之故(图 II, 29, 31),产后约经一周时间的发育才进入 IV⁺⁺ 期。11 月份的 VI—IV 期卵巢的成熟系数,低于 10 月份 VI—IV 期卵巢的成熟系数,从 10.86% 降至 10.01%,这是因为 11 月份的 VI—IV 期卵巢大多是第二次产后卵巢,卵巢中的空滤泡显著增多,而 4 时相卵母细胞较前减少的缘故。

2. 卵母细胞的组成 香鱼生殖周期内,在不同发育时期的卵巢中,其卵母细胞的组成有着显著不同。

(1) 5—8 月卵巢,从 I 期卵巢(图 II, 23)发育至 II 期卵巢。在 II 期卵巢中,第 2 时

相卵母细胞无论在数量上还是所占切面面积上都占大多数(图 II, 24), 其中第 2 时相卵母细胞个数约占 69.39%, 第 1 时相的只占 30.61%。

(2) 9 月上旬—9 月中旬卵巢, 为 III 期卵巢, 处在大生长期早期。卵巢中除第 3 时相卵母细胞外, 还有相当数量的第 1、2 时相卵母细胞(图 II, 25); 从数量上看, 第 3 时相卵母细胞占 35.0%—42.0%, 1、2 时相卵母细胞占 58.0%—65.0%; 从切面上所占面积比例来看, 3 时相卵母细胞占 64.0%—81.0%, 而 1、2 时相仅占 19.0%—36.0%。

(3) 9 月中旬—10 月上旬卵巢, 为处在大生长期晚期的 IV 期卵巢。其卵母细胞组成的组织学图象比较复杂, 在 IV 早期卵巢中, 除 4 时相卵母细胞外, 还有 1、2、3 时相卵母细胞(图 II, 26)。其中 4 时相卵母细胞的个数比例占 42.0%, 切面上所占面积比例约 91.0%; 3 时相卵母细胞的个数占 14.2%, 面积比例约 6.3%; 1、2 时相卵母细胞的个数占 39.7%, 在切面上所占面积比例约 2.4%。在 IV 晚期卵巢中, 除 4 时相晚期卵母细胞外, 还有 4 时相早期及 1、2、3 时相等卵母细胞(图 II, 27)。其中 4 时相晚期卵母细胞的个数占 47.4%, 切面上所占面积为 91.7%; 4 时相早期卵母细胞个数占 18.6%, 面积占 6.6%; 3 时相卵母细胞个数占 8.9%, 切面上面积占 0.57%; 1、2 时相卵母细胞的个数占 17.8%, 面积占 0.44%。从上述可知, 第 4 时相卵母细胞无论在数量上还是体积上都占大多数, 成为本期卵巢内的基本细胞群。3、2、1 时相卵母细胞虽占有一定数量, 但在卵巢中占有的体积比例比较小。

(4) 10 月上旬—11 月卵巢, 即繁殖季节的卵巢。除 V 期卵巢外, 还有第一次产卵后卵巢(VI—IV 卵巢)、产后恢复至 V 期的重复 V' 期卵巢以及第二次产卵后的 VI—IV' 卵巢等等, 各期卵巢中卵母细胞组成也很复杂:

V 期卵巢: 卵巢中基本细胞群为第 5 时相卵母细胞(图 II, 28), 其个数占 45.6%, 切面上所占面积约 92.5%; 4 时相卵母细胞的个数占 22.6%, 切面上面积占 6.61%; 3 时相卵母细胞的个数占 11.5%, 面积比例为 0.51%; 1、2 时相卵母细胞个数占 15.20%, 面积比例约 0.30%。在 IV 晚期卵巢发育至 V 期过程中, 其中的 4 时相晚期卵母细胞即成 5 时相卵母细胞, 但在 V 期卵巢中的 4、3、2 各时相的卵母细胞仍处在早期阶段, 各批卵母细胞之间存在着明显的时相差。

第一次产卵后的 VI—IV 期卵巢, 香鱼产卵后即成 IV 期卵巢。在这种卵巢中, 除少数未产完的 5 时相卵母细胞外, 基本细胞群为处在早期阶段的 4 时相卵母细胞, 其个数约占 49.7%, 切面上面积比例为 63.1%; 3 时相卵母细胞的个数占 33.3%, 面积占 6.73%; 1、2 时相卵母细胞个数占 11.5%, 面积占 1.04%。在上述卵母细胞之间还存在着许多空滤泡(图 II, 29)。在卵巢切面中, 有无空滤泡的存在, 是区别 IV 期卵巢与 VI—IV 期卵巢的主要标志。

重复 V' 期卵巢: 产卵后的 VI—IV 期卵巢, 经过一段时间的恢复即成重复 V' 期卵巢。这种卵巢的组织学图象与 V 期卵巢相似, 在此不多述。卵巢中在 5 时相卵母细胞之间, 还存在着一些空滤泡的遗迹(图 II, 30)。

第二次产卵后的 VI—IV' 期卵巢, 这种卵巢与第一次产卵后的 VI—IV 期卵巢在外形上不易区分。从切面上来看, 第二次产卵后的 VI—IV' 卵巢中空滤泡明显增多(图 II, 31), 除 4 时相早期卵母细胞外, 3、2 时相卵母细胞所占的比例显著减少。其中 4 时相早

期卵母细胞的个数占 65.0%，在切面上占有的面积比例约 66.7%；3 时相卵母细胞的个数占 24.10%；1、2 时相卵母细胞的个数占 3.9%，面积只占 0.27%，甚至在有的视野中找不到 1、2 时相卵母细胞。此外，还有 4.2% 的成熟卵未产出。

讨 论

1. 关于香鱼卵膜结构及其生理机能问题

众所周知,对于粘性鱼卵来说,在第 3 时相早期卵母细胞时,其卵膜可以明显地分成细胞膜、放射带及包卵膜等三层结构,其中放射带很厚,放射条纹明显可见,这些都有利于营养物质进入卵母细胞。然而香鱼卵母细胞发育中,在第 3 时相卵母细胞早期,于卵细胞膜的外周,首先出现一层染色很深的附着膜结构,但这时未见放射带形成。当卵母细胞发育到 3 时相晚期时,才在附着膜的内周由卵细胞膜向外形成放射带结构,尽管这时附着膜增厚到 2.8—3.6 微米、附着膜上已出现明显的条纹,但放射带仍很薄,放射条纹这时尚未发现。这就表明,在香鱼第 3 时相卵母细胞时,附着膜发育已很完备,具有放射带相同的生理机能,即保护卵母细胞发育,附着膜上的微细管道,是物质进入卵母细胞的通道。正由于附着膜具有上述特性,香鱼卵母细胞放射带的形成较之其他粘性鱼卵来得晚。当香鱼卵母细胞发育至第 4 时相中、后期时,由于附着膜不能完全包裹卵母细胞,这时放射带才明显增厚,出现明暗相间的放射纹,放射带的生理机能才显示出来。

附着膜似与其他粘性鱼卵的包卵膜同源,即由滤泡细胞形成的一层卵膜结构。当卵子成熟产至体外后,由于水流冲击,附着膜以受精孔为中心立即反转,这时附着膜除起附着作用外,似还有保护香鱼胚盘的作用。

2. 关于核仁排出物在卵黄形成中的作用问题

卵黄形成是个很复杂的过程。一般认为在早期卵母细胞核附近的胞质中出现一被碱性染料染成深色的卵黄核,用 Alimann 氏液和 Da Fano 氏液固定切片染色,都证实线粒体及高尔基复合体是卵黄核的主要成份。也有人认为卵黄核中含有氧化酶(Voss 1924); Konopačka (1935)则认为卵黄核中含有脂肪。目前一般认为,卵黄核中的线粒体等分散到卵周皮层细胞质中,这些线粒体可能就是卵黄的前身物质。线粒体的分布区域与卵黄颗粒出现的位置是相一致的。

至于卵黄形成的形态学方面描述,在青鱼 4 时相卵母细胞中观察到卵黄的形成有两种类型:一种是泡内卵黄,另一种为泡外卵黄^[8]。在鲢鱼上观察到,鲢鱼卵子有两套卵黄颗粒的存在,它们的染色反应及来源各不相同^[9]。

根据我们观察,在香鱼 2 时相早期卵母细胞中,可以见到其卵黄核的存在(图 I,2)。但在 2 时相卵母细胞从早期到晚期的发育过程中,核中的核仁物质不断积聚,逐步地在核膜内缘形成几个到十几个呈圆形的粗大核仁。在 2 时相中、后期,这些核仁物质逐渐脱离卵核进入核周围的细胞质中(图 II,32—36)。这一过程一直持续到 3 时相早期,当液泡出现后这一过程便停止。在这期间,核仁排出物不断进入细胞质,在有的切面上曾见到两团核仁物质同时离开卵核进入胞质(图 II,36)。当卵母细胞进入 3 时相后,核中的粗大核仁少见,这也许是核仁物质被排出的结果。这种进入细胞质中的核仁物质可能就是形成核周

围的第二套卵黄的前身物质,或者说该物质与第二套卵黄的形成有关。

关于卵母细胞中的核仁在营养物质积聚过程中的作用问题,曾有过论述^[23],有人主张核仁排出物进入胞质后,便失去可染色性而溶解到细胞质中,它们在卵黄形成中起作用,可以直接转变成蛋白质卵黄(据 Chr. P. Raven, 1961)^[24]。至于核仁排出物的排放方式是多样的,在各种真骨鱼类,核仁排出物从核膜的部分破裂口排出(Narain, 1937, Stolk, 1959)^[25]。有关这方面的研究,似有深入的必要。

3. 香鱼第2时相卵母细胞发育过程中出现围核透明层

第2时相卵母细胞即处在小生长期的初级卵母细胞。小生长期表面上似乎卵母细胞增大不明显(与大生长期相比),但从卵子发生来看,却是卵细胞发生过程中的一个关键时刻(主要是卵核内进行DNA复制),为以后成熟期的减数分裂作准备。

香鱼2时相中期卵母细胞核周围的胞质中,出现一围绕核的透明层结构,开始很窄,以后渐加宽。2时相后期,核迅速膨大,透明层渐消失,整个卵核成透亮的囊泡状。这些卵核的形态变化,可能就是核内DNA复制的反映。透明层内物质密度低,这为卵核的迅速膨大提供了有利的环境。另外,透明层与核仁排出物几乎是同时出现的,核仁排出物先排入透明层,然后再进入卵细胞质,这似乎透明层的出现有助于核仁物质的排放。至于在核仁物质排放过程中有否物质交换过程,尚需深入研究。透明层是否是香鱼第2时相卵母细胞中所出现的特殊结构,这也是值得研究的课题。

4. 关于精孔结构

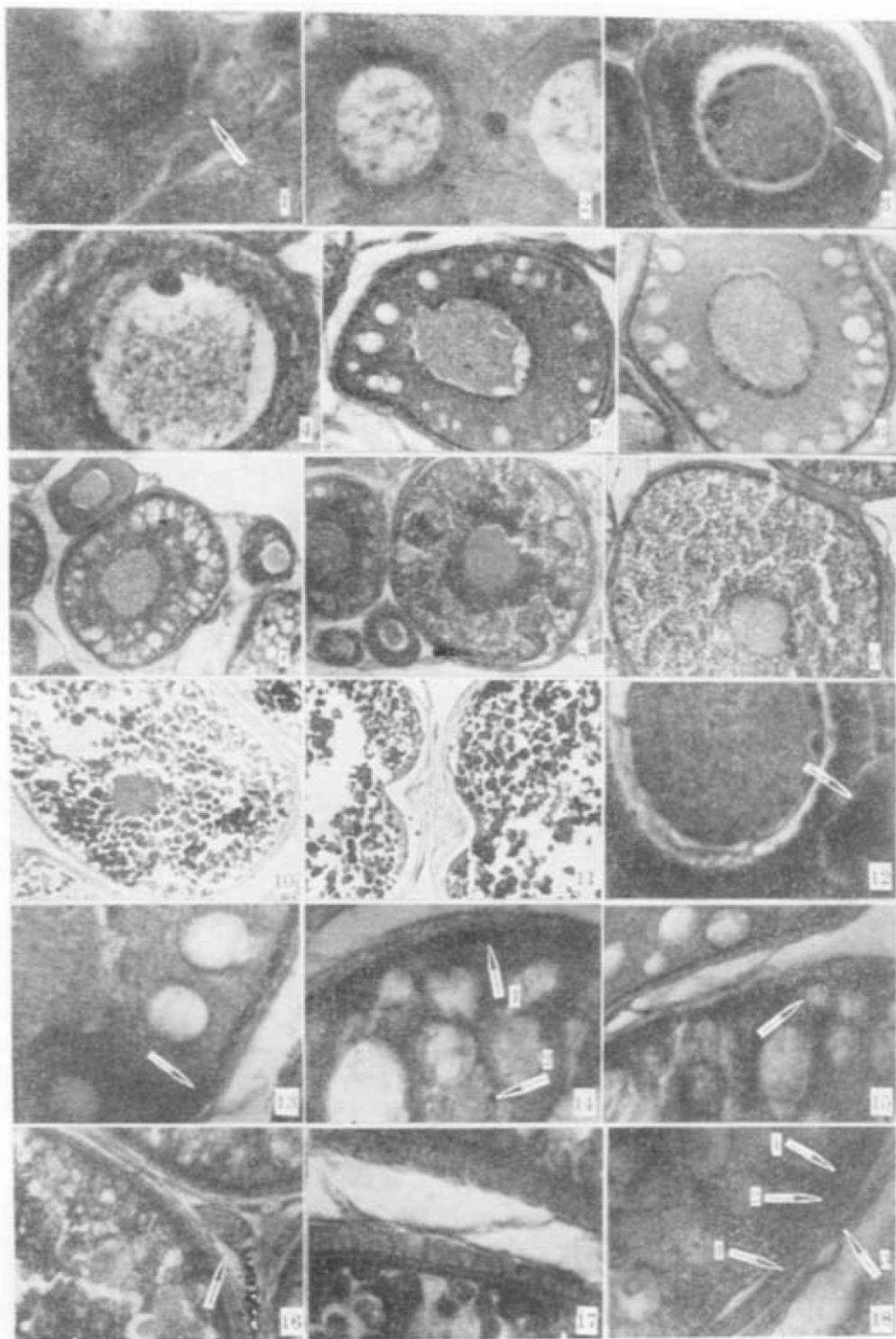
关于鱼类精孔结构, T. S. Yamamoto(1955)在鲑鱼和鲱鱼上作过研究(据朱洗等, 1960);鳊鱼活体卵上精孔结构也有过详尽描述^[4];在青鱼4时相中期卵母细胞的切面上,曾观察到精孔漏斗区内紧嵌着一个很大的呈扁圆锥形的精孔细胞^[6]。此外,在金鱼(朱洗等, 1960)、花鲢白鲢(王幽兰等, 1961)、草鱼(刘筠等, 1966)、泥鳅(吴静仪等, 1962)等成熟卵子上,都观察到类似上述的精孔结构。

香鱼5时相卵母细胞上的精孔都位于其胚盘原基处,在这里卵母细胞上的放射带、附着膜等都内陷成一漏斗状结构。在精孔的漏斗区内存在着十几个到二十几个不等的卵圆形细胞。这些细胞似组成一圆锥形的合胞体,紧嵌在精孔处。细胞排列紧密,其胞质及胞核着色甚浅,常仅见其胞核的存在。从其卵径大小,染色情况等分析,似是一团卵原细胞在此集中。

关于精孔细胞的来源,据朱洗等(1960)分析,精孔细胞与卵细胞是属同一系统,即由同一母细胞分裂出来的姐妹细胞,后来其中一个自己退化即成精孔细胞。刘筠等(1965)在草鱼卵母细胞上观察到,精孔细胞在3时相卵母细胞时,由滤泡细胞分化产生的。总之,精孔细胞是由卵原细胞分化而来的,但其分化过程目前不明。

5. 产卵类型

正如前述,在V期卵巢中,除5时相卵母细胞外,还同时存在着4时相及3时相等不同时相的卵母细胞。在VI—IV产后卵巢中,可以见到许多空滤泡的存在,这表明该鱼不久前曾产过卵;但同时又见到大量的4时相早期卵母细胞,这些卵母细胞的卵膜、细胞质、细胞核及卵黄颗粒、卵径大小等都很正常,不久即可发育成熟。即使在重复V'期卵巢中,除5时相卵母细胞外,还有相当数量的第4、第3时相卵母细胞。这些充分说明,香鱼卵



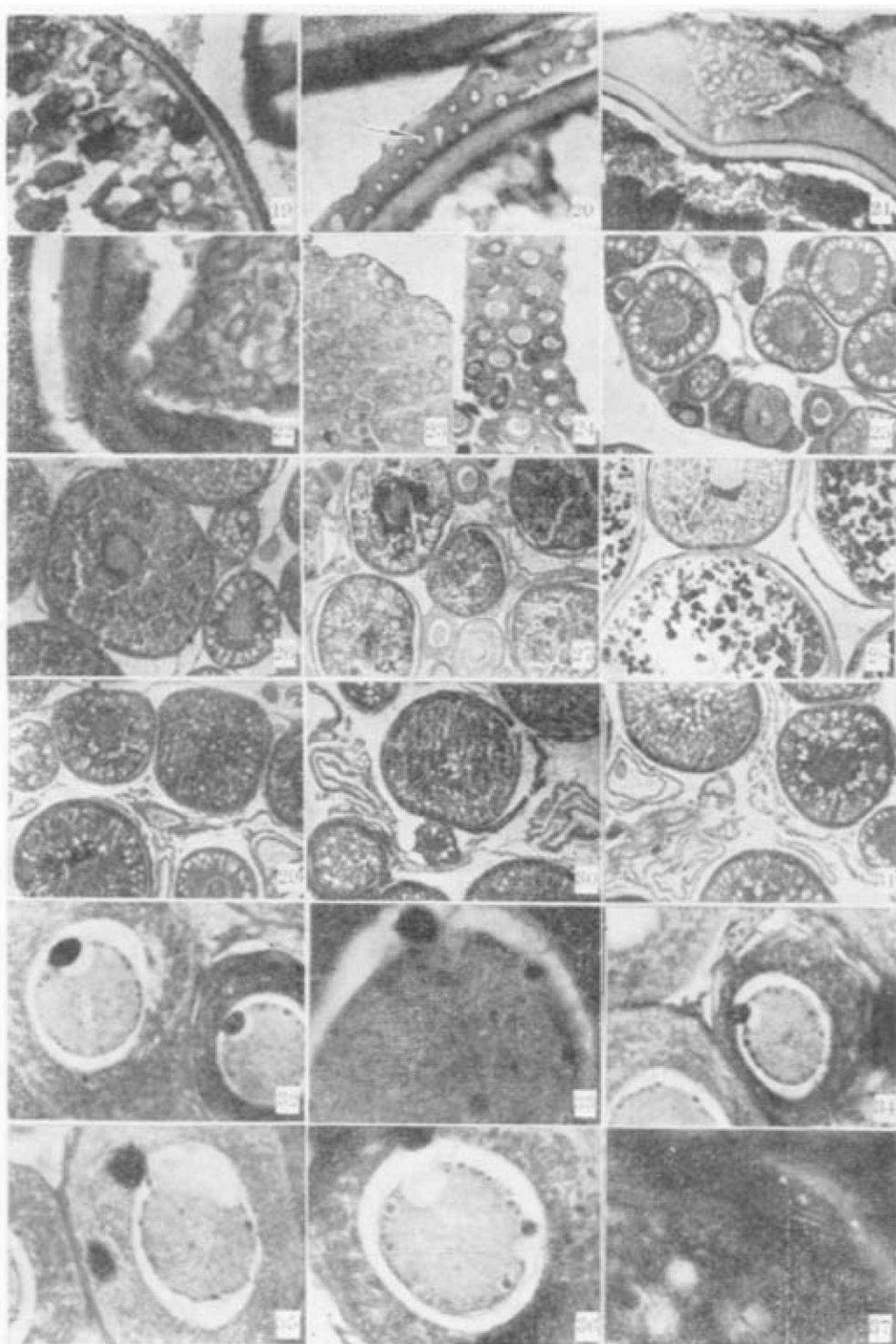


图 1 说 明

1. 第 1 时相卵母细胞, 箭头所指系细胞核。
2. 第 2 时相早期卵母细胞。
3. 第 2 时相中期卵母细胞。图中可以清楚地见到围绕核的透明层结构, 箭头所指系一原生质膜, 透明层以此膜同卵细胞质分开。
4. 第 2 时相晚期卵母细胞。核膜充分膨胀, 透明层正在消失。
5. 第 3 时相早期卵母细胞。
6. 第 3 时相中期卵母细胞。
7. 第 3 时相晚期卵母细胞。
8. 第 4 时相早期卵母细胞。
9. 第 4 时相中期卵母细胞。
10. 第 4 时相晚期卵母细胞, 核正在偏位。
11. 第 5 时相卵母细胞。
12. 第 2 时相卵母细胞中的卵黄核, 箭头所指处。
13. 第 3 时相早期卵母细胞(单层液泡)中, 滤泡膜内侧首先出现一层深色附着膜, 如箭头所指。
14. 第 3 时相晚期卵母细胞(多层液泡)中, 附着膜内侧出现一薄层放射带, 如箭头 1 所指; 在液泡之间出现细小的卵黄颗粒, 如箭头 2 所指。附着膜上明暗相间的条纹已很明显。
15. 第 3 时相晚期卵母细胞中, 在液泡之间出现一些小油球, 如箭头所指。
16. 在第 4 时相卵母细胞中, 箭头所指表示附着膜由厚变薄的情形。
17. 高倍放大显示附着膜上的明暗相间的条纹。
18. 第 4 时相卵母细胞时, 在卵细胞膜的外侧, 可以见到卵黄膜(放射带)、附着膜、两层滤泡膜等结构。箭头 1 指细胞膜, 箭头 2 指放射带、箭头 4 指附着膜、箭头 3 指滤泡膜。

图 2 说 明

19. 4 时相晚期卵母细胞中, 油球及液泡集中在细胞膜内缘, 未见油球合并现象。
20. 附着膜上的许多卵圆形小孔, 如箭头所指。
21. 受精孔。
22. 受精孔放大。在受精孔处可以见到成堆的细胞, 形成一合胞体塞在精孔处。
23. I→II 期卵巢, 卵巢尚未明显分叶。
24. II 期卵巢, 卵巢已分叶。
25. III 期卵巢。
26. 第 IV 期卵巢, 除 4 时相卵母细胞外, 尚有 3 时相卵母细胞等。
27. 第 IV 期晚期卵巢, 除 4 时相晚期卵母细胞外, 还有 4 时相早期、3 时相及 2 时相等卵母细胞。
28. V 期卵巢, 除 5 时相卵母细胞外, 还有 4 时相早期卵母细胞等。
29. 第一次产卵后的 VI—IV 期卵巢。卵巢中除空滤泡外, 主要是 4 时相早期卵母细胞。
30. 重复第 V' 期卵巢, 除 5 时相卵母细胞外, 尚有空滤泡残迹。
31. 第二次产卵后的 VI—IV' 卵巢。
32. 2 时相卵母细胞中核仁排出物正在脱离卵细胞核。
33. 核仁排出物已进入透明层。
34. 核仁排出物正在进入卵细胞质。
35. 核仁排出物已完全进入卵细胞质, 图中可以见到部分核膜破裂的情形。
36. 核仁排出物进入卵细胞质后, 核膜破裂部分正在修复。
37. 第 5 时相卵母细胞时的萎缩卵。图中示附着膜等正转变成吞噬细胞。

巢中卵母细胞的发育显非同步性；除主要卵母细胞外，还存在着相当数量的过渡类型卵母细胞。第一次产卵后 VI—IV 期卵巢经过一段时间恢复即变成重复 V' 卵巢，在这过程中，VI—IV 期卵巢中 4 时相卵母细胞发育成 5 时相；3、2 时相卵母细胞分别发育成重复 V' 期卵巢中的 4、3 时相卵母细胞。必须指出，在重复 V' 期卵巢中的 3 时相卵母细胞的数量急剧下降，仅占 9.8%。在第二次产卵后的 VI—IV' 期卵巢中，4 时相早期卵母细胞的卵膜、核、质等都很正常，在其繁殖季节可以发育成 5 时相卵母细胞进而产至体外；其中的 3 时相卵母细胞虽还有一定数量，但在切面上占有面积仅 3.97%，在一般情况下，这部分卵母细胞不再发育下去了。但如外界条件适宜（主要是水温、饵料等），这批卵母细胞也有可能发育成熟。

在卵巢排卵过程中，1、2 时相卵母细胞的数量不断下降（从 17.80% 下降到 3.80%）；观察切片时也未见新的卵母细胞产生。综合上述，香鱼为分批产卵类型。一般分 3 次产完，每次间隔约 1—2 周。

6. 关于分批产卵鱼类卵巢的分期依据

在硬骨鱼类中，卵巢分期及卵母细胞时相的划分，一般采用 Meßen (1939) 的方法。

以肉眼来确定卵巢发育时期，往往产生误差。就是使用切片方法，如以各种卵母细胞在切面上所占个数的百分比来确定卵巢时期，其结果也会引起偏差。为此，中国科学院实验生物研究所发生生理研究室(1962)^[4]曾提到，各时相卵母细胞的数目不可机械平比，因为各时相卵母细胞的体积相差悬殊。施琼芳等(1964)^[2]则进一步建议，以各种时相卵母细胞的体积在卵巢中所占的比例来确定卵巢时期。对于分批产卵的鱼类，卵巢中除主要卵母细胞外，尚有一定数量的过渡类型卵母细胞。前已提到，这些过渡类型的卵母细胞处在早期阶段，体积都较小，例如在 V 期卵巢中的 4 时相卵母细胞，与 IV 期卵巢中 4 时相卵母细胞相比，其大小相差很大；V 期卵巢中的 3 时相卵母细胞与 III 期卵巢中的 3 时相卵母细胞相比，其体积相差也很大。如果用统一的各种时相卵母细胞的平均面积，来算出该时相卵母细胞在切面上所占面积的百分比，则定会产生误差。为此，我们建议，对于分批产卵的鱼类卵巢，在计算其中各时相卵母细胞在切面上所占面积的比例时，应按实际情况来计算，例如 IV 晚期卵巢中的 4 时相晚期卵母细胞，则应以该时相晚期卵母细胞的平均面积计算之；V 期卵巢中的 4 时相卵母细胞则以 4 时相早期卵母细胞的平均面积计算之。

结 论

(1) 香鱼为一年生鱼类。在其生殖周期中：1—4 月：性腺未分化；5—8 月：性腺开始发育，一般为 II 期卵巢；9 月上旬—9 月中旬：为 III 期卵巢，卵巢中的主要卵母细胞处在大生长期早期；9 月中旬—10 月上旬：一般属 IV 期卵巢，其中的主要卵母细胞处在大生长期的晚期；10 月上旬—11 月：香鱼卵巢有 V 期、VI—IV 期、重复 V' 期等形态。

(2) 在 2 时相卵母细胞中期，核周出现透明层；

(3) 在 2 时相卵母细胞从中期到晚期的发育过程中，核仁物质不断离开卵核进入胞质；

(4) 3 时相卵母细胞具有发达的附着膜结构，而放射带的形成较晚；

- (5) 香鱼的精孔处有一个由许多细胞组成的圆锥形合胞体；
 (6) 香鱼为短期分批产卵类型，在其生殖周期内一般产 3 次。

参 考 文 献

- [1] 伍献文等, 1963. 中国经济动物志: 淡水鱼类. 24—25, 科学出版社。
 [2] 施琼芳等, 1964. 鲢鱼性腺周年变化的研究. 水生生物学集刊, 5(1): 77—94。
 [3] 刘筠等, 1962. 草鱼性腺发育的研究. 湖南师范学院自然科学学报, 1—23。
 [4] 中国科学院实验生物研究所发生生理研究室, 1962. 家鱼人工生殖的研究. 9—10, 科学出版社。
 [5] 武汉大学生物系实验鱼类学及养殖实验室, 1959. 白鲢、鲤鱼、草鱼性腺及其相关器官在秋冬季的生理组织学资料. 武汉大学自然科学学报, 1959(3)。
 [6] 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, 7: 43—76。
 [7] 李有广等, 1965. 池塘鲢鱼性腺周期变化的研究. 水产学报, 2(3): 59—66。
 [8] 湖南师范学院生物系鱼类研究小组, 1975. 青鱼性腺发育的研究. 水生生物学集刊, 5(4): 471—484。
 [9] 刘筠等, 1978. 草鱼产卵类型的研究. 水生生物学集刊, 6(3): 247—260。
 [10] 中山大学生物系等, 1978. 草鱼人工繁殖中一年多次产卵的生物学基础. 水生生物学集刊, 6(3): 261—272。
 [11] 刘效舜, 1962. 小黄鱼地理族及性腺的研究. 太平洋西部渔业研究委员会第七次会议论文集, 35—70。
 [12] 吴佩秋, 1981. 小黄鱼不同产卵类型卵巢成熟期的组织学观察. 水产学报 5(2): 161—170。
 [13] 瑞温, C.P. 1961. 卵子发生中的卵核. 卵子发生(李汝祺、张宗炳译): 41—70, 科学出版社。
 [14] 宫地傅三郎、川那部浩哉、水野信彦, 1978. *アエ Plecoglossus altivelis* T. et s. 原色日本淡水鱼类图鉴, 103—114。
 [15] 松原喜代松、落合明, 1965. *アエ Plecoglossus altivelis* T. et s. 鱼类学(下), 494—505。
 [16] 松原喜代松、落合明、岩井保, 1965. 鱼类学(上), 169. 恒星社厚生阁版。
 [17] Chopra, H. C., 1963. Cytological and cytochemical study of the growing oocytes of the fish, *Boleophthalmus dussumieri*. *La Cellule*, 60: 303—318。
 [18] Najim K. AL-Daham and M. Nazir Bhatti, 1979. Annual changes in the ovarian activity of the freshwater teleost, *Barbus luteus* (Heckel) from Southern Iraq. *Journal of fish biology*, 14(4): 331—337。
 [19] Samuel A. Matthews, 1938. The seasonal cycle in the gonads of *fundulus*. *Biology Bulletin*, 75: 66—74。
 [20] Yoshiharu Honma, 1961. studies on the endocrine glands of the salmonid fish, Ayu, *Plecoglossus altivelis* Temminck et Schlegel-IV. The fate of the unspawned eggs and the new crops of oocytes in the spent ovary. 日本水产学会誌. 27(10): 873—879。

A HISTOLOGICAL STUDY ON THE DEVELOPMENT OF OVARY OF AYU

Gong Qixiang

(Zhejiang Fisheries College)

Cao Keju and Zeng Zeng

(Central China Agriculture College)

Abstract

A histological study on the development of the ovary of Ayu, *Plecoglossus altivelis*

was carried out through the years from 1979 to 1980. All the fish were sampled from the river "Wu Qi" in Zhejiang province.

From December to April, the gonad has not yet differentiated, during May to August the ovary enters into stage II, From early September to middle September, the ovary develops into stage III, from middle september to early October it enters stage IV. The spawning season of Ayu is in October–November the ovary reached to stage V, and the oocytes is mainly in phase 5, but also contains the phase 4, 3, 2 and 1. After the releasing of one batch of eggs, the spent ovary is observed to be in stage VI–IV, the oocytes are mainly in phase 4 and empty follicles, then the ovary develops again into stage V' and the next spawning takes place. The ovary develops to stage V once again. Evidently the development of the oocytes in the ovary of Ayu is in successive processes and the female releases eggs 3–4 times in one spawning season.

In the stage II of the development of oocytes, the nucleolus containing substance which is possibly related to the fotation of yolk within the oocyte, enters into cytoplasm by the part rupture of the nuclear membrane.

In the middle stage of phase 2, there is a transparent layer surrounding the nucleus. Egg membrane of Ayu is composed of 3 layers: plasma membrane, zona radiata and attachment membrane which is present in the oocyte in phase 3.

A *syncytium* is conical in shape and located near the fertilization orifice consisting of more than 10 cells.