

文章编号: 1000-0615(2003)02-0183-05

·研究简报·

乌鳢卵巢发育的组织学

陈文银, 张克俭

(上海水产大学渔业学院, 上海 200090)

关键词: 乌鳢; 形态学; 组织学; 卵巢发育

中图分类号: S917 文献标识码: A

Histological studies on the ovary development of *Channa scopoli*

CHEN Wen-yin, ZHANG Ke-jian

(Fisheries College, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

Abstract: The histology, evolution of the structure, composition and morphology of oogonia and primary oocytes in different phases during the ovary development of snakehead, *Channa scopoli*, were studied. The traditional method of wax section was employed to perform the hematoxylineosin staining. The ovary of snakehead is overlaid by the 2-layer membrane featured with abundant veins. The primordial germ cell of ovary extends into the ovary together with the inner connective tissue membrane to develop into many ovarian lamellae that arrange radiately around the ovarium cavity. With regard to the developing snakehead, the pattern and structure of its oogonia and early primary oocyte are of fundamental homology with most of the osteichthyes, while the nutrimental composition, accumulation, distribution and the composition of ova membrane for the primary oocyte in phase III and IV are of preferable difference with them. The nutriment of its oocyte is primarily composed of glucoprotein which is included in the vesicle. But the amount of yolk which is primarily composed of protein is comparatively small, even the same for the oocyte developing into the phase IV which is featured with the deviation of nucleus. So the amount of nucleoli in the primary oocyte of the snakehead is significantly limited than most of the osteichthyes. The primary oocyte in phase III and IV of the snakehead only have 1 layer of ova plasmalemma which is covered by another 2 layers follicular membrane developed from the follicle cell, but there is not any radiated belt of jelly membrane between the membrane and the follicular membrane which is developed from the primary ova membrane and the secondary one in most of the osteichthyes cases.

Key words: *Channa scopoli*; morphology; histology; ovary development

进行鱼类发育生物学研究, 通常首先研究的是该种鱼的性腺发育规律, 为此, 多年来国内外对鱼类性腺发育的研究已发表了很多报道¹⁻¹⁹。同样, 为了掌握乌鳢发育生物学的规律, 作者对乌鳢性腺的组织学结构和卵细胞发育中的变

收稿日期: 2002-04-18

资助项目: 上海水产大学渔业学院青年科研基金支持项目

作者简介: 陈文银(1963-), 男, 江苏泰兴人, 副教授, 主要从事鱼类增殖研究。

化进行了研究, 研究中发现乌鳢卵母细胞发育过程中不同阶段的卵细胞的形态、结构、卵质中营养物的贮存、分布等特征有别于大多数硬骨鱼类。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用乌鳢分别在不同季节里从集贸市场购买, 先后购买6次, 共计18尾, 体重在300~650g。

1.2 实验方法

实验用活鱼买回后即进行解剖取出卵巢, 并分别用 Bouin 氏和4%福尔马林-钙固定液固定。固定后制成8 μ m的石蜡切片。两种固定液固定的卵巢切片均用 Ehrlich 氏酸性苏木精-伊红(H-E)染色, 显微镜观察并拍照。

2 结果

乌鳢卵巢为1对圆柱形的囊状器官, 前端分别被肠与肝所包裹, 后端近泄殖孔处合而为一, 共同开口于泄殖孔。卵巢外有被膜包裹, 其被膜的结缔组织可明显地分为内外两层, 两层膜间有较粗大的血管(图版-1)。内层的结缔组织与原始生殖细胞一同延伸进入卵巢内部形成许多板层状的结构—产卵板。产卵板上的原始生殖细胞分化形成卵原细胞。横切面看, 乌鳢的卵巢腔位于中央, 产卵板以中央卵巢腔为中心向四周呈辐射状排列, 被膜中的血管随结缔组织进入卵巢并分支遍布于产卵板及卵母细胞的周围。

在发育至不同时期的卵巢中, 可观察到不同时相的卵细胞。乌鳢不同时相卵细胞具有下列特征。

2.1 卵原细胞及向初级卵母细胞过渡的卵细胞

即I时相卵细胞。乌鳢I时相卵细胞的卵径在15~26 μ m, 卵原细胞呈圆形或卵圆形, 多为卵圆形。光镜下观察, I时相卵原细胞胞质少呈匀质状, 为强嗜碱性, 苏木精深染。核大, 核径10~19 μ m, 染色质呈丝网状, 稀疏散布于核内, 核染色较淡, 内有1~2个明显的核仁。核质比约为1:1。当卵原细胞增大到约20~26 μ m左右时, 卵膜外侧出现2~3个突起, 这些突起是首先在卵膜外侧形成的形态不规则的滤泡细胞。表明这些卵原细胞正向初级卵母细胞过渡(图版-2)。此时的卵原细胞核质比约为0.5:1。

2.2 初级卵母细胞

鱼类的初级卵母细胞为进入营养物质合成和积累期的卵母细胞, 它包含II时相、III时相及IV时相等3种类型的初级卵母细胞。这些卵母细胞均处在第I次成熟分裂的前期。随着营养物的合成和不断积累, 卵母细胞的体积明显增大, 它们的形态和结构也发生重大变化。

II时相卵母细胞: 由卵原细胞发育而来进入小生长期的早期初级卵母细胞, 为原生质增长阶段, 细胞体积逐渐增大。乌鳢的II时相卵母细胞的卵径约在30~110 μ m, 细胞呈圆球形, 由于在卵巢内各卵母细胞相互挤压, 有些卵细胞形状不规则。II时相早期的卵母细胞质膜外侧的1层完整的滤泡膜尚未形成, 至II时相中、后期, 卵母细胞的卵膜外侧已形成1层由低立方形的滤泡细胞构成的完整滤泡膜。光镜下观察, 滤泡细胞的核呈小的圆球形。卵母细胞的卵质内原生质已明显增多, 在核膜附近有一卵黄核结构, 卵质内还有卵黄核散开的碎片状成份, 至II时相晚期碎片状卵黄核呈环状排列分布, 卵质呈弱嗜碱性。II时相卵母细胞核仍较大, 核质比约为0.3:1, 核内核仁数逐渐增多, II时相早期约5~8个, 至II时相晚期, 在一个正中切面上可观察到20个左右的核仁(图版-3)。

III时相卵母细胞: 为进入大生长期的初级卵母细胞, 由于卵母细胞内营养物的不断合成和积累, 卵母细胞的胞体明显增大, 卵径在150~520 μ m间。卵膜外侧又形成1层滤泡膜, 此时卵母细胞外共有2层滤泡膜包围, 构成滤泡膜的滤泡细胞稍稍变得扁平, 其核仍为圆球形或椭圆形。在内层滤泡膜与卵母细胞的质膜间没有胶质的卵黄膜, 也没有放射膜(图版-4)。III时相早期的卵母细胞胞质明显分为两层, 外层的皮质部染色较深, 为弱嗜碱性, 细小的液泡首先出现在皮质部, 其所占部位较大, 内质染色较淡, 为弱嗜酸性, 无液泡。此时核仍较大, 核膜呈波浪形, 核仁多紧靠核膜分布, 但数量并未明显增多, 一个正中切面仍有20个左右。III时相中后期的卵母细胞内液泡明显增多, 散布于核外空间, 液泡大小差异很大, 小者1 μ m不到, 大者可达30~40 μ m。此时, 不同卵母细胞中的液泡构成许多非常不同的图形(图版-4.5.6)。液泡间有较小的卵黄颗粒出现。

IV时相卵母细胞: 随着营养物的不断合成和积累卵母细胞胞体逐渐长足, IV时相卵母细胞的卵径达 600~1250 μ m。IV时相卵母细胞膜外侧的2层滤泡膜变得更为扁平。滤泡膜与卵质膜间仍没有滤泡细胞的分泌物所形成的放射膜及卵细胞分泌物形成的胶质初级卵膜(图版一7)。乌鳢IV时期卵母细胞的卵质内分布着大大小小数量很多的液泡, 液泡之间散布着大小不等的卵黄颗粒。从所占卵质的空间看, 液泡所占空间明显大于卵黄颗粒。图版一8是卵母细胞已发育到IV时相末的状态, 从图中可以看出, 卵细胞核已移位到达动物极。卵质内已充满包含在液泡内的营养物, 液泡间及卵细胞的外质部分为小颗粒状的卵黄物质。表明乌鳢卵母细胞的生长期已完成, 一旦生殖和生态条件具备卵母细胞将重新启动成熟分裂并等待产卵受精。

3 讨论

3.1 乌鳢卵母细胞及营养物的特征

乌鳢I时相卵原细胞和III时相的初级卵母细胞的细胞学特征与其它硬骨鱼类无明显不同, 但III时相和IV时相卵母细胞却有较大差异。乌鳢初级卵母细胞进入大生长期后细胞质中仍以液泡为主, 卵黄的含量相对较少。即使卵母细胞进入营养物合成和积累的高峰期—IV时相卵细胞时也同样如此。卵母细胞中遍布大量大小不等液泡, 卵黄颗粒小且散在液泡之间。此外, 乌鳢III时相卵母细胞中的液泡呈现出很奇特图象, 尚未发现鱼类卵母细胞的液泡呈现如此多种多样的图形, 以及卵细胞内的营养物以液泡内的包含物为主的报道。迄今, 不同作者所描述鱼类IV时相卵母细胞的细胞学结构是卵细胞内充满卵黄颗粒, 尤其是在IV时相晚期的初级卵母细胞内, 仅在卵膜附近有1~2层小液泡存在^[4,7]。乌鳢却正好相反, 由此可见乌鳢胚胎发育期间的营养物是由液泡内的营养物和卵黄共同承担的。而从含量的多少看, 液泡内的营养物很可能是胚胎发育所需营养物的主要承担者。

乌鳢卵母细胞在发生过程中, 其细胞核中的核仁数在II时相达20个左右, 继续发育至III—IV时相时, 核仁数也没有明显增加, 显然少于其它鱼类。如, 香鱼(*Plecoglossus altivelis*)一个正中切面上可多达33个^[8], 东海银鲳(*Stromateoides argenteus*)近30个^[3]、海鲢(*Muraenesox cinereus*)30个^[7]、纳木错裸鲤(*Gymnocypris namensis*)达43~82个^[10], 而青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)处在生长期时可多达200个。在电镜技术、生物化学分析技术及细胞生物学知识还不普及的时代, 许多作者对鱼类卵细胞中的核仁的功能不是很清楚, 并做了许多推测, 如Melhrotra^[9]认为核仁物质进入细胞质后, 在卵黄形成过程中没有任何作用; 也有研究者认为核仁与卵黄的形成功^[3,5,8]。但对核仁参与卵黄形成的机理并不了解。随着细胞生物学的不断深入, 发现核仁是核内的重要结构成分之一, 它的主要功能涉及细胞内核糖体的生物发生。因为核仁的成分中有转录rRNA的rDNA, 在核仁中由rDNA转录出rRNA, 而转录出的rRNA经加工后产生出构成真核细胞核糖体的5S rRNA、18S rRNA和28S rRNA, 这些rRNA与来自染色体上的DNA转录的5S rRNA分别在核仁内与众多种类的核糖体蛋白质构成核糖体的大小亚单位, 然后输出核进入到细胞质中, 在细胞质内核糖体大、小亚单位组装成完整的核糖体进行蛋白质的合成^[11]。龚启祥等^[1,6]和何德奎等^[8]所说的核仁排出物, 实质是核糖体的大小亚单位。如上所述, 乌鳢卵母细胞内卵黄含量相对较少与卵细胞核中的核仁数量相对较少是密切相关的。

3.2 乌鳢卵膜结构

迄今所知, 淡水或海水鱼类III时相和IV时相卵母细胞的质膜外具有初级卵膜和次级卵膜。初级卵膜由卵母细胞自身分泌的物质围绕卵细胞的微绒毛周围形成的; 次级卵膜则由卵细胞周围的滤泡细胞向内分泌的物质围绕在初级卵膜外周形成的。由于卵母细胞和滤泡细胞的质膜表面突出许多形成微绒毛, 微绒毛分别插入这两层胶质膜中, 使得初级卵膜和次级卵膜都呈现出放射状的带纹, 所以又称为放射膜^[10]。乌鳢III时相和IV时相初级卵母细胞的卵膜仅有一层质膜, 质膜外没有初级卵膜和次级卵膜形成的放射带, 因此明显不同于大多数鱼类的卵膜结构。

参考文献:

- [1] Gong Q X, Ni H E, Li L P, et al. On the change of the ovary in annual cycle of silver pomfret *Stromateoides argenteus* from the East China Sea [J]. *J Fish China*, 1989, 13(4): 316-325. [龚启祥, 倪海儿, 李伦平, 等. 东海银鲳卵巢周年变化的组织学观察[J]. *水产学报*, 1989, 13(4): 316-325.]
- [2] Zhang K J, He Y M, Zhang J L, et al. Studies on the gonadal development of the Xinghuai hybrid crucian carp [J]. *J Fish China*, 1995, 19(1): 58-64. [张克俭, 何玉明, 张金龙, 等. 兴淮鲫(白鲫♀×散磷镜鲤♂)性腺发育的研究[J]. *水产学报*, 1995, 19(1): 58-64.]
- [3] Chopra H C. Cytological and cytochemical study of the growing oocyte of the fish, *Bolaophthalmus dussumieri* [J]. *La Cellule*, 1958, 60: 303-318.

- [4] Iwamatsu T, Ohta T. Fine structure of loach oocytes during maturation *in vitro*[J]. *Growth Differ*, 1977, 19: 219—226.
- [5] Zhang K J, Zhang Y J, Zhen D Y. Studies on the gonadal morphology and development of pike conger *Muraenesox cinereus*[J]. *J Fish China*, 1999, 23(1):13—20. [张克俭, 张饮江, 郑东勇. 海鳗性腺形态和发育的研究[J]. *水产学报*, 1999, 23(1): 13—20.]
- [6] Gong Q X, Cao K J, Zeng Z. A histological study on the development of ovary of ayu[J]. *J Fish China*, 1982, 6(3): 221—234. [龚启祥, 曹克驹, 曾山. 香鱼卵巢发育的组织学研究[J]. *水产学报*, 1982, 6(3): 221—234.]
- [7] Lin D, Lin H R. Studies on the breeding biology of the eel (*Anguilla japonica* Temminck & Schlegel) III. Histological and cytological studies on the gonadal development of eel[J]. *Acta Hydrobiol Sin*, 1984, 8(2): 157—164. [林鼎, 林浩然. 鳗鲡繁殖生物学研究 III. 鳗鲡性腺发育组织学和细胞学研究[J]. *水生生物学集刊*, 1984, 8(2): 157—164.]
- [8] 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]. *水生生物学集刊*, 2001, 25(1): 1—13.]
- [9] Malhotra Y R. Seasonal variation in the morphology of the ovaries of a Kashmir fish *Schizothorax niger* Hechel[J]. *Kashmir Science*, 1965, II: 27—39.
- [10] van Der Merwe W, van Vuren J H J, Vermaak J F. Cyclic histomorphological changes in the ovary of mudfish, *Labo capensis*[J]. *Aquac*, 1988, 72: 349—358.
- [11] Zhai Z H. Cell biology[M]. Beijing: Higher Education Press, 1993. 208—210. [翟中和. 细胞生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1993. 208—210.]

图版说明

Explanation of Plate

1. 乌鳢卵巢膜由两层被膜包裹, 膜间有丰富血管(箭头示膜和血管), $\times 25$; 2. 箭头示卵原细胞和早期初级卵母细胞, $\times 250$; 3. 箭头示 II 时相初级卵母细胞, $\times 250$; 4. 箭头示 III 和 IV 时相卵母细胞的质膜、二层滤泡膜, 但无放射膜, $\times 250$; 5—6. III 时相卵母细胞液泡的形态和分布的不同图形, $\times 125$; 7. 示 IV 时相初级卵母细胞的质膜和滤泡膜, $\times 500$; 8. 箭头示卵核已移位至动物极和卵质内充满液泡的 IV 时相晚期初级卵母细胞, $\times 125$

1. The ovary of snakehead is overlaid by the 2-layer membrane featured with abundant veins, arrow shows the 2-layer membrane and veins, $\times 25$; 2. arrow shows the oogonia and oocyte in the early phase II, $\times 250$; 3. arrow shows the oocyte in the phase II, $\times 250$; 4. arrow shows the plasmalemma and 2-layers follicular membrane of oocytes in the phase III and IV, but there is not radiated membrane $\times 250$; 5—6. shows various patterns of morpho and distribution of the vesicle of oocytes in the phase III $\times 125$; 7. shows the plasmalemma and follicular membrane of oocyte in the phase IV, $\times 500$; 8. arrow shows the nuclei shifted to the pole of animal and the oocyte of the late phase IV, in which of the cytoplasm filled with the vesicles. $\times 125$

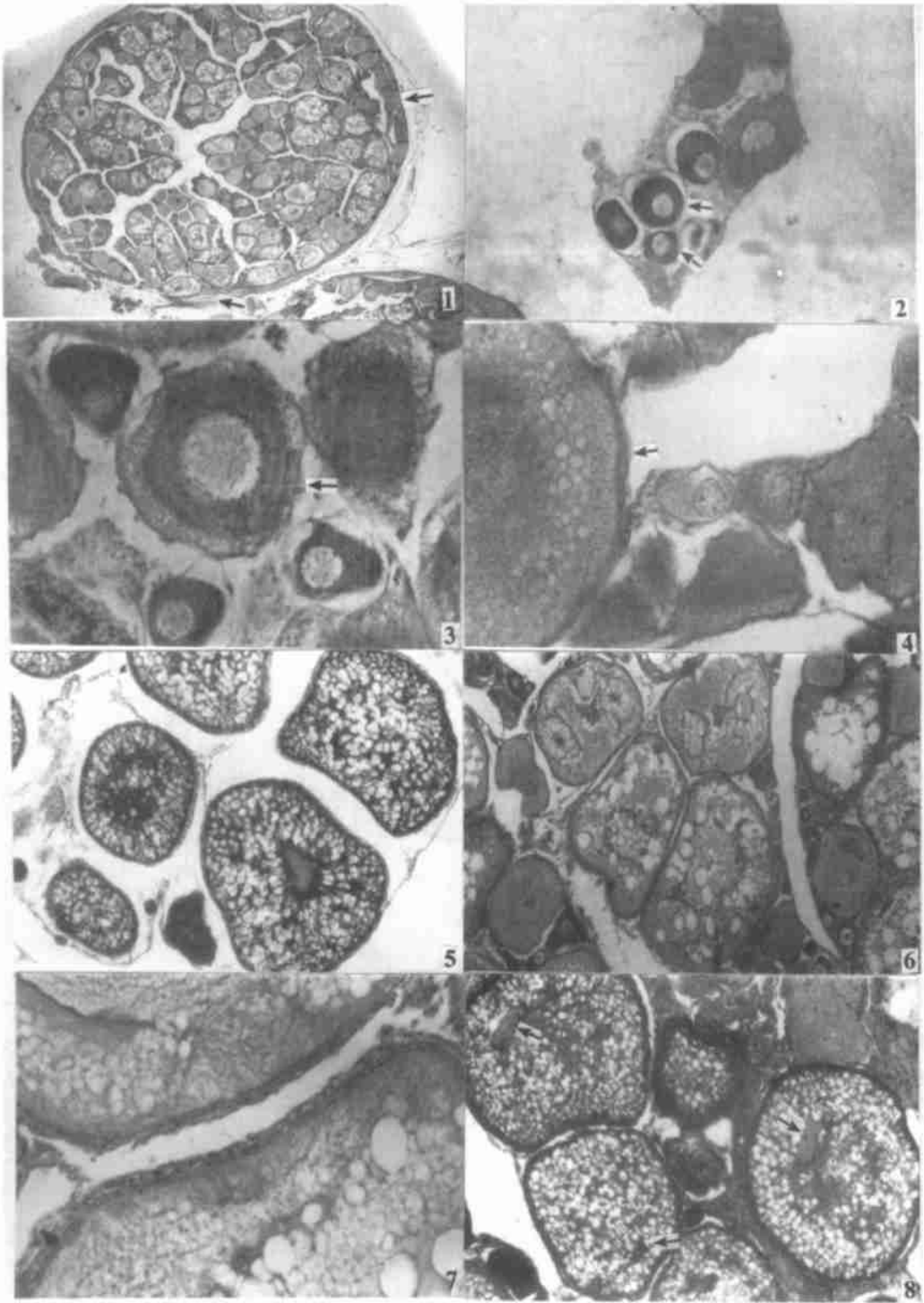


图 版 Plate