

文章编号: 1000-0615(2004)04-0353-07

池养鲮的卵巢发育和卵子发生过程

方永强¹, 林君卓², 翁幼竹¹, 刘丽丽¹

(1. 国家海洋局第三海洋研究所, 福建 厦门 361005;

2. 福建省海洋研究所, 福建 厦门 361012)

摘要:通过卵巢切片的组织学分析揭示,幼鲮在土池养殖 3 个月后可见线状卵巢,大约 5 个月后卵原细胞进入第一次成熟分裂前期的双线期转变为早期初级卵母细胞。接着卵母细胞生发泡(核)和胞质体积增加,核质比从 3.5:1 减少至 2:1。此后卵巢中卵母细胞停滞发育持续至养殖的第 3 年。在第 3 年卵巢切片看出卵母细胞进入脂肪泡时相,在第 3 年秋季进入卵黄发生时相。但在人工养殖条件下卵母细胞仅能发育到卵黄发生后期,即卵母细胞胞质充满卵黄颗粒,生发泡居中而不移位。这些结果对于用人工养殖鲮为亲鱼开展人工繁殖提供重要的科学依据。并讨论了卵子发生 6 个时相的生物学特点及其重要的细胞器在卵黄发生中可能的生理作用。

关键词: 鲮; 卵子发生; 卵巢; 组织学

中图分类号: S917 **文献标识码:** A

The process of the ovary development and oogenesis in the cultured-pond *Mugil cephalus*

FANG Yong-qiang¹, LIN Jun-zhuo², WENG You-zhu¹, LIU Li-li¹

(1. Third Institute of Oceanography, State Oceanography Administration, Xiamen 361005, China;

2. Institute of Fujian Oceanography, Xiamen 361012, China)

Abstract: The biological character of ovary development and oogenesis in the artificial cultured grey mullet of outdoor pond was reported firstly. The analysis of ovary histological sections revealed that an ovary of thin line was seen in grey mullet after being cultured for three months, then, the oogonia of diplotene stage of the first meiotic prophase in ovary transformed into primary oocyte after being cultured for about five months. During this stage the germinal vesicle (nucleus) and cytoplasm increased in volume, but the nucleo-cytoplasmic ratio decreased from 3.5:1 to 2:1. The development of early oocytes in ovary stagnated until the third year of culture. At that time, the oocytes of adipose vesicle phase could be seen in the sections of ovary. The oocytes of vitellogenic phase occurred in the autumn of the third year. We have observed that under the artificial cultured condition of outdoor pond the ovary of grey mullet could not complete maturation and the oocytes only developed into the late stage of vitellogenesis, i.e., the cytoplasm of oocyte was full of yolk granules and germinal vesicle located at center without migration. These results will provide the important scientific basis for the artificial prepropagation using cultured grey mullet. Finally, the biological character and physiological role of important cell

收稿日期: 2003-01-20

资助项目: 福建省重中之重项目和福建省自然科学基金项目(B0110037)

作者简介: 方永强(1937-), 男, 福建云霄人, 研究员, 主要从事海洋动物生殖内分泌学研究。Tel: 0592-2195277, E-mail: xmwyz@public.xm.fj.cn

organelle in the oocytes of six phases in the process of oogenesis were discussed in the paper.

Key words: *Mugil cephalus*; oogenesis; ovary; histology

鲮 (*Mugil cephalus* Linnaeus) 是我国东南沿海重要的海水养殖鱼类之一。有关鲮性腺发育的组织学研究, 林君卓等^[1]和洪万树等^[2]分别报道了鲮精子发生的组织学和精子发生的超微结构; 方永强等^[3]报道了鲮早期卵子发生的超微结构; 何大仁等^[4]报道了从小生长期至大生长期后期鲮卵母细胞发育过程。既然鲮卵子发生过程上述学者已经做过报道, 为什么还要进行研究呢? 理由是: (1) 何大仁等的报道来自自然海区的鲮, 而在池塘中人工养殖条件下鲮卵巢从卵原细胞至卵母细胞发育和成熟过程的组织学研究, 迄今在国内外尚未见报道; (2) 据我国台湾报道, 鲮卵巢可以替代大麻哈鱼卵巢加工为鱼仔酱, 鲮卵巢身价上升, 在台湾培育成熟鲮卵巢已成为水产养殖业一个新的增长点, 鲮鱼苗供不应求; (3) 目前国内开展鲮人工育苗多数采用海区捕捞的鲮作为亲鱼。由于资源衰减, 亲鱼严重不足, 必须采用养殖鲮作为亲鱼。在这种情况下, 很有必要用组织学的方法研究人工养殖条件下鲮卵子发生过程和卵巢发育的生物学特点, 为鲮生殖生物学和适时开展鲮人工繁殖提供科学依据。

1 材料与方 法

从海区捕捞的野生鲮鱼苗, 体长为 2~3 cm, 暂养在土池小网箱中, 经适应后生长至 4~5 cm 时, 放在龙海市大径福建省水产研究所中试基地土池中养殖, 盐度为 28.5~31.2。取人工养殖的不同年龄鲮各 20 尾, 用丁香酚麻醉后, 测量体长, 称体重, 体长为 13~49.5 cm, 平均体重 50~1700 g, 年龄为 1~4 龄。然后小心分离两侧的性腺并称量, 生殖指数以性腺重(g)占体重(g)的百分比表示。最后取小块性腺, 在 Bouin-Hollane 氏液中固定 8~12 h, 未成熟性腺按常规系列酒精脱水, 石蜡包埋, 切片厚为 5 μm , 而大生长期中后期卵巢的组织切片按参考文献^[5]方法进行, 以防止切片和染色时卵细胞中卵黄的脆化, 切片厚 6~8 μm 。H-E 染色, 显微镜下观察并拍照。卵巢分期及卵母细胞各时相的区分按 Мейен 等^[6]提出的, 并结合我国已有的习惯和卵细胞发育的生物学特点来划分。

2 结 果

鲮池养 3 个月后, 性腺开始发育和分化, 原始的卵原细胞经有丝分裂、增殖、数量增加, 从第一次成熟分裂前期的双线期转变为早期初级卵母细胞, 后停留在此期 2 年左右才发育进入大生长期。根据其形态与组织结构和生物学特点, 将卵巢和卵细胞的发育分为 6 期。

卵巢 I 期与第 1 时相卵原细胞 卵巢一对, 为透明细线状, 紧贴在体腔壁上, 形态上难以区分雌雄, 此时生殖指数(GSI)为 0.03% 左右。切片观察可见卵巢中第 1 时相原始的卵原细胞为椭圆形, 胞质被苏木精染为蓝色, 显嗜碱性, 卵核内核质不着色, 有 1~2 个核仁, 被伊红染为红色, 显嗜酸性, 居中或偏于一侧, 胞径为 $25.1 \pm 2.49 \mu\text{m}$ (22.60~29.30 μm), 核径为 $17.20 \pm 1.42 \mu\text{m}$ (14.20~18.50 μm), 核质比约 3.5:1 (图版-1)。另外, 人工养殖 4 个月后, 从卵巢切片看出, 卵原细胞已经进入第一次成熟分裂前期联会丝复合体期的粗线期 (pachytene stage), 细胞为椭圆形或卵圆形, 核内同源染色体配对变粗, 有一个大的核仁, 染红色, 靠近核内膜为其特征 (图版-2)。在卵核的一侧上方出现深染色月牙形或半圆形核仁样体 (nucleolus-like bodies) 或称卵黄核 (yolk nucleus), 当卵原细胞发育为早期初级卵母细胞时, 核仁样体也从核上方沿核周迁移至胞质中央 (图版-3, 4)。此时卵原细胞继续发育进入双线期 (diplotene stage), 转变为早期卵母细胞。

卵巢 II 期, 第 2 时相卵母细胞、小生长期卵母细胞 (卵黄生成前期卵母细胞) 卵巢半透明, 粉红色, 粗线状, 或棒状, 前端略圆, 在卵巢表面可见细小血管分布, 此时 GSI 为 0.08% 左右。卵巢中初级卵母细胞的形态特征是, 细胞为卵圆形或不规则形, 胞径为 $49.70 \pm 17.30 \mu\text{m}$ (25.20~73.40 μm), 核径 $22.80 \pm 6.70 \mu\text{m}$ (12.0~32.40 μm), 核质比约为 1.4:1, 胞质体积增加。从切片中可见有的卵母细胞核孔扩张, 核仁正向着核孔移动 (图版-5); 另一些细胞可见核仁外溢 (外排) 在核旁及其在胞质中, 显红色小颗粒为嗜酸性物质, 直径为 1~2 μm , 这是一个特点 (图版-6); 另一个特点是

生发泡内有多个核仁沿核周贴近核内膜,多者达 11~14 个(图版-7);第三,核周胞质出现强的嗜碱性网状带,随卵母细胞发育网状带迁移至胞质中部及其周围,由网状凝聚为块状(图版-8,9)。

卵巢 II 期,第 3 时相卵母细胞,脂肪泡时相 卵巢体积增加,为圆柱状,显粉红色,卵巢表面血管更加显著,此时 GSI 为 0.08% 左右。它的生物学特点是卵母细胞核内核仁增大,沿核内膜分布,核周胞质出现脂肪泡或称油滴,油滴大小不一,为 4.3~7.5 μm ,同时,还可见靠近胞膜胞质出现大小不一的皮质泡,此时胞径为 121.10 \pm 14.9 μm (103.0 ~ 146.0 μm),核径为 59.0 \pm 15.80 μm (33.6 ~ 90.0 μm) (图版-10)。另外,在颗粒细胞(或称滤泡细胞)和卵黄膜之间为卵被膜(egg envelope)或称卵膜(egg membrane),是围绕着卵的非细胞结构,宽度 3.15~4.68 μm ,它由二层膜组成,最厚内层称为放射带(zona radiata),外层为透明带(zona pellucida)。在此时期可见放射带有明暗相间排列的放射纹,其中可供微绒毛通过的放射孔道。在外层还可见扁平颗粒细胞贴附,向外有膜细胞(theca cell)(图版-11)。

卵巢 III 期,第 4 时相卵母细胞或称卵黄发生时相 池塘中人工养殖鲮在第三年卵巢中卵母细胞开始合成卵黄颗粒。与前两个时相不同是,卵巢明显发育增大,变粗,卵巢表面有许多细的血管分布,淡黄色。根据卵巢中卵母细胞形态结构以及胞质中卵黄颗粒数量和分布的特点,可细分为 3 个不同时期:(1)卵黄发生早期,特点是细胞体积进一步增加,为椭圆形或不规则形,胞径为 160.60 \pm 21.40 μm (132.30 ~ 196.0 μm),核径为 56.80 \pm 11.0 μm (41.20 ~ 70.60 μm)。胞质显著变化是,靠近卵质膜周围出现卵黄颗粒,有 1~3 层不等,被伊红染为红色或红蓝色,卵黄颗粒大多为圆形。放射带增厚,约 6.7~9.6 μm 。在放射带外侧仍可见梭形颗粒细胞,核增大,细胞数量增加,在其外侧为膜细胞(图版-12)。

卵巢 IV 期,卵黄发生中期 卵巢粗大,为圆柱形,显桔黄色,卵巢表面有较粗血管分布,肉眼可见卵颗粒,此时 GSI 增加为 8.2%。卵巢中主要为卵黄发生中期和后期的卵母细胞,中期卵母细胞的特点是,细胞体积继续增大,胞径为 226.70 \pm 40.20 μm (156.0 ~ 284.20 μm),核径为 70.40 \pm 14.70 μm (51.20 ~ 91.20

μm),胞质中卵黄颗粒数量明显增加,被 H-E 染为红蓝色,靠近核周仍可见脂肪泡密集;生发泡居中,为椭圆形,可见多个核仁沿核内膜分布,核质着色浅,生发泡被膜呈锯齿形。放射带进一步加厚,放射纹明显,宽度为 7.2~10.60 μm (图版-13)。卵黄发生后期,细胞为卵形或圆形,胞径 394.80 \pm 40.70 μm (335.20 ~ 439.10 μm),核径 76.10 \pm 10.20 μm (53.90 ~ 98.0 μm)。卵黄颗粒充满胞质,围绕生发泡周围的脂肪泡数量显著的减少,核居中或偏位,但其被膜高度波浪形(图版-14),放射带继续增厚,宽度为 9.6~14.40 μm ,颗粒细胞位于放射带外侧,与膜细胞紧密排列,且这两种体细胞的数量明显增加(图版-15)。

卵巢 V 期,卵母细胞成熟时相 土池养殖鲮时难见卵母细胞成熟时相。因为卵巢进一步发育成熟的生态条件不适应,故在冬季卵巢开始退化,进入第 6 时相。我们没有在养殖条件下观察到第 5 时相成熟卵母细胞,即生发泡移向动物极和生发泡膜破裂。

卵巢 VI 期,第 6 时相,退化卵母细胞时相 卵巢中主要是由发育成熟末及时排出和未成熟的第 4 时相的卵母细胞在卵巢中退化吸收。卵黄被吸收前首先破碎为细小颗粒,有的在胞质中液化。卵母细胞外放射带开始出现缺刻,放射条纹消失,放射带增厚,模糊不清。卵母细胞逐渐萎缩,卵黄全部被吸收,卵母细胞中只留下滤泡细胞和空泡(图版-16)。

3 讨论

关于自然海区或淡水湖泊的鲮和其它经济鱼类卵巢发育和卵子发生的组织学研究,国内有些学者作过报道^[1-9],这对于了解在自然生态条件下,鲮卵子发育及其成熟、繁殖季节、习性和资源保护与利用有重要的意义,但是,在人工养殖情况下,鲮卵巢发育和卵子发生的生物学特点,则报道甚少,几乎找不到可利用资料。其次,从鲮鱼卵子发生的整个过程来看,可分为两个截然不同的发育时期。

一是卵黄发生前期的卵母细胞,这一时期特点是,核孔扩张和核仁外排以及核旁和胞质中出现卵黄核,被认为是卵黄发生前期卵母细胞代谢活动十分旺盛的一个标志,其根据是早期卵母细胞核孔扩张,核仁朝核孔扩张方向移动(图版-5),

与 Kessel^[10]在电镜观察到的核仁由核孔进入胞质相一致,本研究提供新证据。关于核仁样体的命名、形态结构、起源和功能研究已取得新进展。目前,国外学者较一致将它称为核仁样体或称类核周体,简称 nuage^[12]。在文昌鱼和鲷早期卵子发生的超微结构等研究中对核仁样体的结构与功能已作了较详细论述^[13,14]。鲷卵黄核由电子致密纤维和颗粒物质所组成,是卵母细胞胞质中核糖体成熟所必须的,并为卵黄生成做好准备以及激发线粒体发育和成熟起重要的作用。

二是卵黄发生期主要特征是卵母细胞胞质合成卵黄颗粒,根据卵黄形成前卵母细胞胞质中脂肪泡和卵黄泡(皮质泡)的分布位置和卵黄颗粒的染色反应,认为鲷卵黄积累方式类似于鳗鲡^[7]的积累方式,油球(脂肪泡)、皮质泡(卵黄泡),卵黄球的顺序,卵黄颗粒性质为卵黄蛋白和脂蛋白,与方永强等^[15]报道相一致。

从第3~4年池养鲷卵巢切片分析看,卵巢中充满第4时相卵黄生成后期卵母细胞,核居中,油球多,倘若不给予外源激素,出现卵巢萎缩,卵母细胞退化吸收,这种情况与我们在美国夏威夷海洋研究所研究鲷人工育苗时所见到的相一致。研究还发现,池养鲷一旦注射激素后,生发泡和胞质就会发生一系列连续的生理变化,最后达到生理上的成熟^[16]。了解这些情况,将为人工养殖鲷时进行人工繁殖提供有关科学资料。

卵母细胞和它们的被膜之间的结构和功能的关系,有一些学者在多种鱼类做过报道^[17-19]。Yamagami等^[20]对鱼类卵被膜的命名、来源和它的形成与破裂及其分子结构的细胞学基础作过评述。现在一致认为鱼类卵被膜不同于许多种类细胞器的膜结构,它是细胞外基质(extracellular matrix)的一种结构。卵被膜完整的含义包括初级卵被膜、次级卵被膜和三级卵被膜,本文所指仅是初级卵被膜,即放射带或称透明带。对鲷卵被膜形态发生的观察表明,在卵母细胞第2时相后期,质膜和滤泡细胞(或称颗粒细胞)之间出现一层被H-E染为淡红色的卵被膜,尚无放射条纹,而到第3时相即脂肪泡时相,出现明显的放射条纹及放射孔道(图版-11),这是卵母细胞与滤泡细胞的微绒毛和突起互相沟通的孔道,现认为可能参与小分子物质运输和在微胞饮中起一定作用。随卵母细胞发育成熟,放射带增厚,其功能复杂。

至于放射带的来源,一致认为来自卵母细胞和滤泡细胞,我们倾向于鲷放射带来自卵母细胞,绒毛膜来源和功能仍有待深入研究。

参考文献:

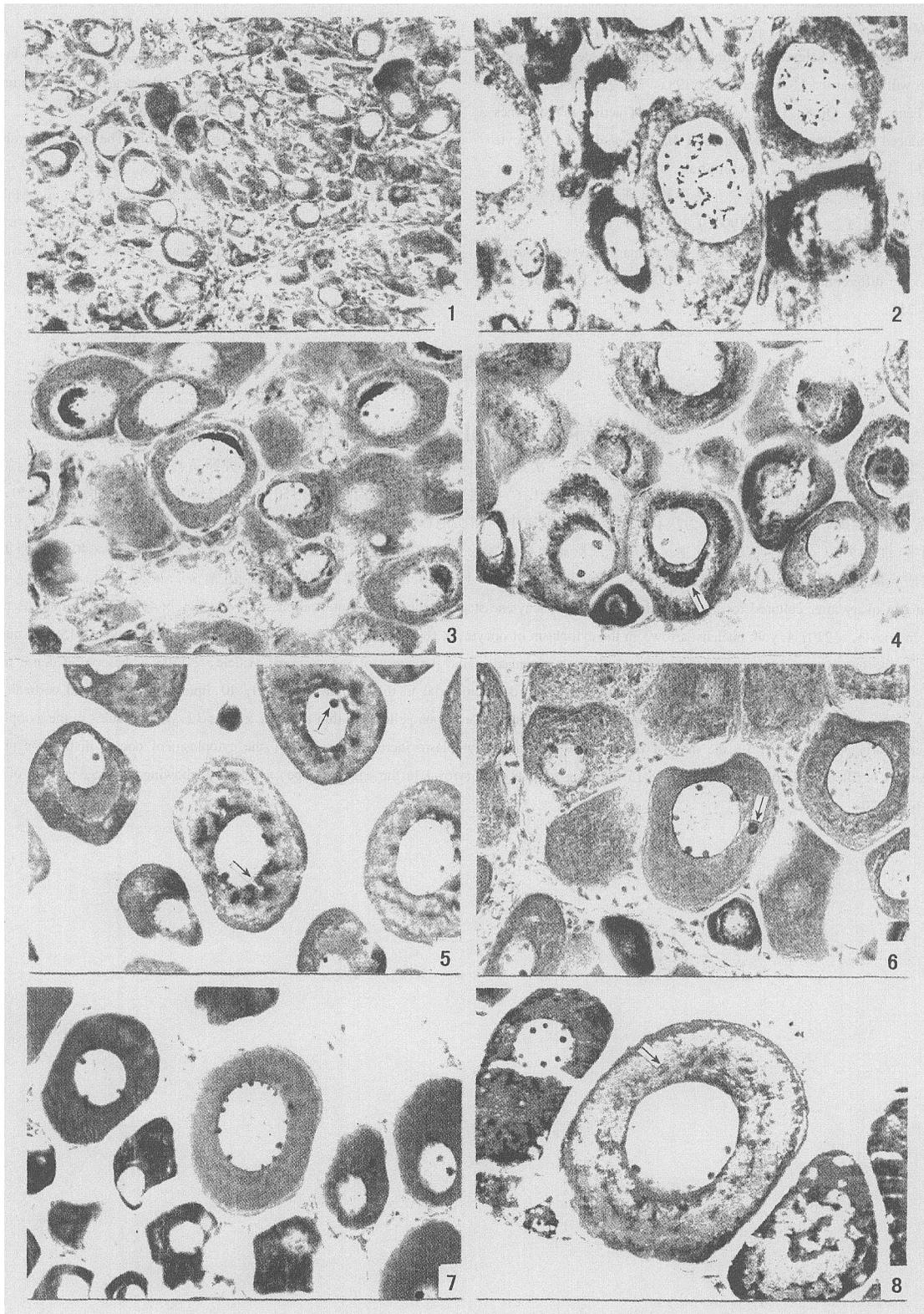
- [1] Lin J H, Weng Y Z, Fang Y Q, et al. A histological study on spermatogenesis of grey mullets, *Mugil cephalus* [J]. J Oceanography in Taiwan Strait, 2001, 20: 57 - 60. [林君卓, 翁幼竹, 方永强, 等. 鲷精子发生的组织学研究[J]. 台湾海峡, 2001, 20: 57 - 60.]
- [2] Hong W S, Weng Y Z, Lin J Z, et al. Ultrastructure of spermatogenesis in the grey mullet (*Mugil cephalus*) [J]. Acta Oceanol Sin, 2001, 23: 116 - 120. [洪万树, 翁幼竹, 林君卓, 等. 鲷精子发生和形成的超微结构研究[J]. 海洋学报, 2001, 23: 116 - 120.]
- [3] Fang Y Q, Weng Y Z, Hong W S, et al. An ultrastructural study of the early oogenesis grey mullet, *Mugil cephalus* [J]. Acta Hydrobiol Sin, 2001, 25: 583 - 589. [方永强, 翁幼竹, 洪万树, 等. 鲷早期卵子发生的超微结构研究[J]. 水生生物学学报, 2001, 25: 583 - 589.]
- [4] He D R, Xiao J H, Shi Y F. A histological study on the gonad of grey mullets in Xinglin, Xiamen [J]. J Fish China, 1981, 5: 329 - 342. [何大仁, 肖金华, 石燕飞. 厦门杏林湾普通鲷鱼性腺组织学研究[J]. 水产学报, 1981, 5: 329 - 342.]
- [5] Zhang Z Y. Technique for egg section in fish [J]. J Chinese Zool, 1980, (2): 145. [张中英. 鱼卵切片技术[J]. 动物学杂志, 1980, (2): 145.]
- [6] Мейєв В А, Вопросы К, годовом О. УНКЛЕ КОСТНЫХ РЫБ [J]. ИЗВ АН СССР. Биол., 1939, 3: 389 - 420.
- [7] Lin D, Lin H R. Studies on the breeding biology of the eel (*Anguilla japonica* Temminck & Schlegel) 3. Histological and cytological studies on the gonadal development of eel [J]. Acta Hydrobiol Sin, 1984, 8: 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: 157 - 164.]
- [8] Shackley S E, King P E. Oögenesis in a marine teleost, *Blennius pholis* L [J]. Cell Tissue Res, 1977, 181: 105 - 128.
- [9] Selman K, Wallace R A. Gametogenesis in *Fundulus heteroclitus* [J]. Amer Zool, 1986, 26: 173 - 192.
- [10] Kessel G. An electron microscope study of nuclear cytoplasmic exchange in oocytes of *Ciona intestinalis* [J]. J Ultrastructure Research, 1966, 15: 181 - 196.
- [11] Hubbard J W. The yolk nucleus in *Cymatogaster aggregatus* Gibbons [J]. Proc Am Philos Soc, 1894, 33: 74 - 83.
- [12] Azevedo C. Development and ultrastructural autoradiographic studies of nucleolus-like bodies (nuages) in oocytes of a viviparous teleost (*Xiphophorus helleri*) [J]. Cell Tissue Res, 1984, 238: 121 - 128.
- [13] Fang Y Q, Welsch U. Ultrastructural study of oocyte during meiotic stages of lancelet oogenesis [J]. Acta Zool Sinica, 1996,

- 42:355-360. [方永强, 威尔士. 文昌鱼卵子发生中成熟分裂时卵母细胞超微结构研究[J]. 动物学报, 1996, 42: 355-360.]
- [14] Wallace R A, Selman K. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts[J]. Amer Zool, 1981, 21: 325-343.
- [15] Fang Y Q, Qi X, Li Z S. Mechanism of action in hormones induced maturation of grey mullet (*Mugil cephalus* L.) oocyte [J]. J Oceanography in Taiwan Strait, 1990, 9: 182-184. [方永强, 齐 襄, 李正森. 激素在诱导鳊鱼卵母细胞成熟中的作用机制[J]. 台湾海峡, 1990, 9: 182-184.]
- [16] Anderson E. The formation of the primary envelope during oocyte differentiation in teleosts[J]. J Cell Biol, 1967, 35: 193-212.
- [17] Tesoriero J V. Formation of the chorion (zona pellucida) in the teleost, *Oryzias latipes* I. Morphology of early oogenesis[J]. J Ultra Res, 1977, 59: 282-291.
- [18] Abraham M, Hilge V, Lison S, et al. The relationship between envelope cells and oocytes in the teleostean ovary structure and function[J]. Isr J Zool, 1981, 30: 110.
- [19] Abraham M, Hilge V, Lison S, et al. The cellular envelope of oocytes in teleosts[J]. Cell Tissue Res, 1984, 235: 403-410.
- [20] Yamagami K, Hamazaki T S, Yasumasu S, et al. Molecular and cellular basis of formation, hardening, and breakdown of the egg envelope in fish[J]. Internation Review of Cytology, 1992, 136: 51-92.

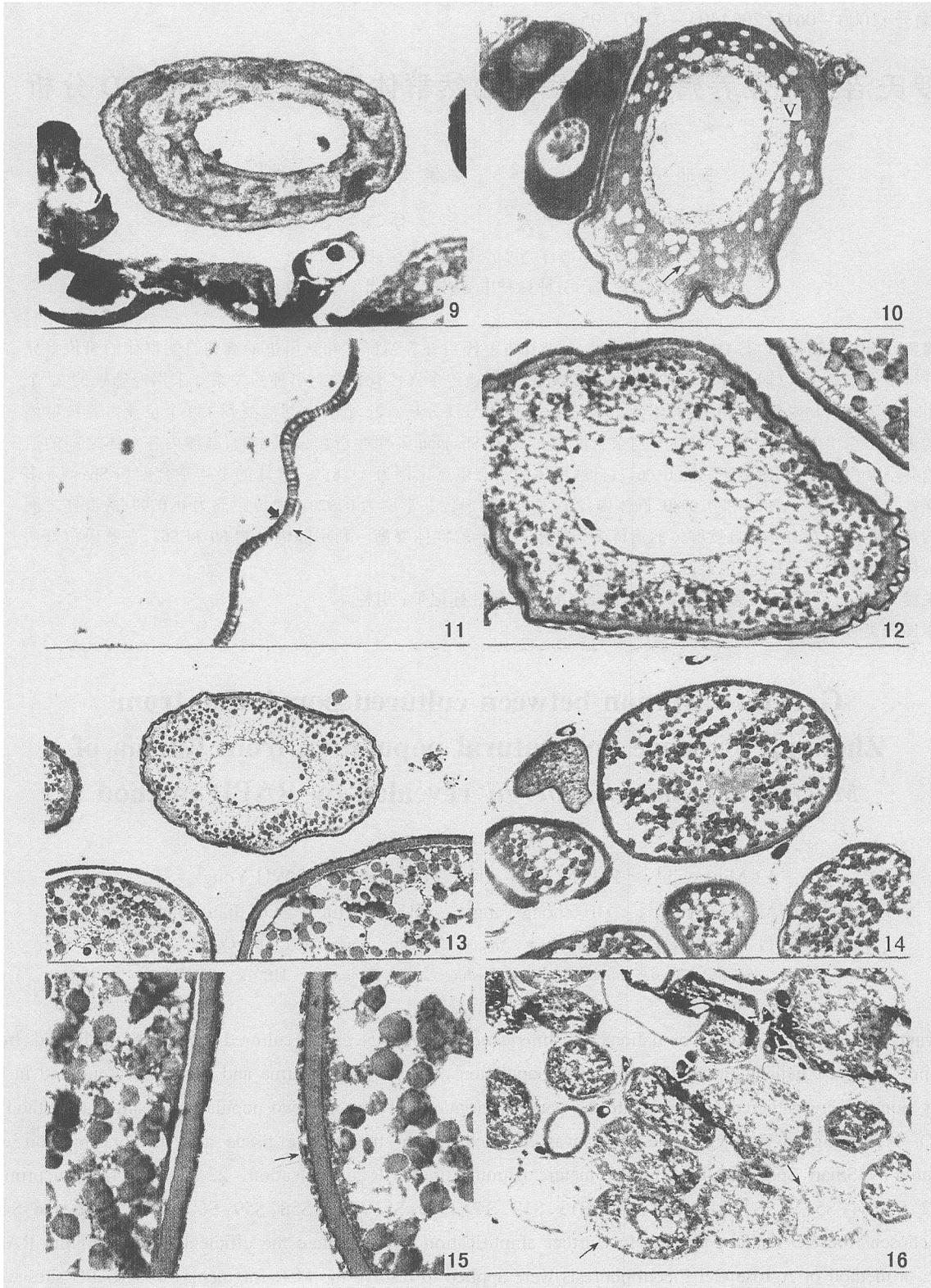
图版说明 Explanation of Plate

1. 养殖 3 个月后卵巢中卵原细胞, $\times 220$; 2. 卵原细胞第一次成熟分裂粗线期, $\times 440$; 3. 卵母细胞核旁卵黄核, $\times 220$; 4. 卵母细胞胞质中的卵黄核(箭头), $\times 180$; 5. 核仁向扩张的核孔(箭头), $\times 150$; 6. 在胞质中的核仁(箭头), $\times 150$; 7. 核仁排列在生发泡周围, $\times 150$; 8. 网状带(箭头)在核周, $\times 180$; 9. 网状带为块状, $\times 180$; 10. 胞质中的脂肪泡(v)和皮质泡(箭头), $\times 150$; 11. 显示卵母细胞放射带(粗箭头)和透明带(细箭头), $\times 360$; 12. 卵黄发生早期卵母细胞胞质卵黄颗粒, $\times 180$; 13. 卵黄发生中期胞质中卵黄颗粒增加, $\times 40$; 14. 卵黄发生后期胞质充满卵黄颗粒, $\times 40$; 15. 卵被膜, 显示滤泡细胞(箭头), $\times 150$; 16. 卵巢 6 期, 退化卵母细胞(箭头), $\times 20$

1. oogonia in ovary after cultured for three months, $\times 220$; 2. pachytene stage of the first meiotic prophase in oogonia, $\times 440$; 3. yolk nucleus near by nucleus in oocyte, $\times 220$; 4. yolk nucleus (arrow) in the cytoplasm of oocyte, $\times 180$; 5. nucleolus to enlarging nuclear pore (arrow), $\times 150$; 6. nucleolus (arrow) in the cytoplasm of oocyte, $\times 150$; 7. nucleoli were arranged at the periphery of the germinal vesicle, $\times 150$; 8. basophilic dense material (arrow) in the perinuclear cytoplasm, $\times 180$; 9. blocky basophilic dense material in the cytoplasm, $\times 180$; 10. lipid vesicle (v) and cortical vesicle (arrow) in the cytoplasm, $\times 150$; 11. showing noza radiata (thick arrow) and zona pellucida (thin arrow), $\times 360$; 12. yolk granules in the cytoplasm of vitellogenic early phase, $\times 180$; 13. the number of yolk granules in the cytoplasm increased, $\times 40$; 14. the cytoplasm of oocyte in the late phase of vitellogenesis is filled with yolk granules, $\times 40$; 15. showing follicle cell (arrow) in the egg envelope, $\times 150$; 16. showing the degeneration of oocyte (phase 6), $\times 20$



图版 Plate



图版 Plate