

食蚊鱼卵子发生的组织学观察*

王志坚, 罗虹, 张耀光

(西南大学 生命科学学院; 水产科学重庆市市级重点实验室; 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 重庆 400715)

摘要: 食蚊鱼卵子发育过程分为6个时相。第1时相, 卵原细胞细胞质较少, 核质比较大。第2时相, 卵母细胞体积增加迅速, 核质比显著减小, 细胞质强嗜碱性, 滤泡细胞出现。到晚期, 有卵黄核及类生长环的出现, 这两种结构均和卵黄物质的形成有关。第3时相, 卵母细胞嗜碱性减弱, 卵黄泡从膜内缘开始出现, 逐渐充满细胞质。颗粒层滤泡细胞互相堆积成舌状镶嵌入卵膜, 并使放射带凹凸不平, 称为镶嵌型滤泡。第4时相, 卵母细胞体积增加较快, 卵黄泡消失, 卵黄物质逐渐充满细胞质, 细胞核移至边缘。第5时相, 滤泡细胞脱落, 成为成熟卵, 卵黄物质均匀散布, 卵膜极薄。第6时相, 未受精卵和滤泡细胞逐渐退化, 被吸收。

关键词: 食蚊鱼; 卵子发生; 组织学; 镶嵌型滤泡细胞; 卵黄积累和来源

中图分类号: Q959.475

文献标识码: A

文章编号: 1672-6693(2008)03-0008-05

食蚊鱼(*Gambusia affinis*)属鲈形目, 胎鲈科, 食蚊鱼属^[1], 其生殖方式为卵胎生。关于卵胎生硬骨鱼类性腺的研究, 国内报道极少, 仅见关于褐菖鲈及食蚊鱼的报道^[2,3], 其中关于食蚊鱼的报道侧重于性腺发育总体的研究和性周期的研究, 对其卵子发生的显微结构研究不很深入, 一些重要结构也尚未描述。本文对食蚊鱼卵子发生过程进行了更深入的研究, 以期对这方面资料加以补充和完善。

1 材料与方方法

实验用鱼于2002年5月~10月, 捕于原西南师范大学生命科学学院实验鱼塘。选取雌鱼进行研究, 体长21.0~40.0 mm, 体重0.351~1.250 g, 共计46尾。组织学材料用Bouin液固定, 石蜡包埋, 切片厚约6~8 μm, 用H. E染色, 测微尺度量, 采用Nikon显微镜观察并拍照。鱼类卵子发生分期参照上海水产学院提供的标准^[4]。

2 结果

根据食蚊鱼卵子发生不同阶段的细胞形态特点, 食蚊鱼卵子发生通常过程可分5个时相, 如果再加上退化吸收时相, 共有6个时相。

2.1 第1时相

即卵原细胞时相。卵原细胞圆形或椭圆形, 直

径6.7~9.3 μm, 核径4~5.3 μm。细胞质较少, 嗜碱性弱, 染色浅, 细胞核位于中央, 核质比较大(图版 I-1)。

2.2 第2时相

又称为单层扁平滤泡时相。此时卵母细胞为初级卵母细胞, 处于小生长期, 卵径20.0~73.3 μm, 核径13.3~34.7 μm。卵母细胞体积增长迅速, 细胞质及细胞核变化十分明显, 细胞质嗜碱性为各时相中最强, 故而染色最深。该时相细胞变化较为明显, 可将其分为早、中、晚三个时期。

2时相早期, 卵母细胞圆形或椭圆形, 大小变化尚不明显, 核质比仍较大。细胞质嗜碱性增强。细胞核圆形, 核区无色或染为淡红色, 核仁2~12个, 数目少者, 有1个大核仁与数个小核仁, 数目多者, 均为小核仁。卵径20~26.7 μm, 核径16~24 μm, 核仁径1.3~2.7 μm(图版 I-2)。

2时相中期, 卵母细胞变化特点是核质比例显著减小。卵母细胞大小不一致, 可相差一倍。呈椭圆形、圆形或不规则的多角形。细胞质嗜碱性显著增强。胞核圆形或椭圆形, 核仁数目较多, 多为1个大核仁和数个小核仁或数十个小核仁分散排列于核内, 核质有的呈絮状排列于核中, 有的呈团状分布于核中。卵径37.3~69.3 μm, 核径17.3~34.7 μm, 核仁径4~10.7 μm(图版 I-3)。

* 收稿日期 2008-01-10

资助项目 重庆市科委项目(No. 2002-7492)

作者简介 王志坚(1969-)男, 副教授, 研究方向为动物资源学和渔业生物学。通讯作者 张耀光, Email: zhangyg@swu.edu.cn

2时相晚期,卵母细胞形状不规则,胞质嗜碱性减弱。有的在胞质中出现卵黄核。还有的在胞质周围有一圈由不规则强嗜碱性的团块组成的环状结构,从形态、染色等方面来说,和其它鱼类卵母细胞中位于核外周边的生长环极为相似,故称为类生长环。细胞核染色浅或为浅红色。核仁数目多,大核仁多在核膜内缘,小核仁分散于核中。卵径 $42.7 \sim 73.3 \mu\text{m}$,核径 $17.3 \sim 33.3 \mu\text{m}$,核仁径 $5.3 \sim 6.7 \mu\text{m}$,卵黄核径 $5.3 \sim 42.7 \mu\text{m}$ (图版I-4)。

滤泡细胞发生于第2时相2时相早期,滤泡细胞尚不明显,第2时相中期和晚期,滤泡细胞为一层,位于卵母细胞周围,扁平状,故称为扁平滤泡细胞。扁平滤泡细胞为梭形或长椭圆形,细胞质染色浅,细胞核位于细胞中央,染色深(图版I-10)。

2.3 第3时相

即卵黄泡出现时相。细胞质的嗜碱性减弱,染色为淡红色。卵黄泡由胞膜内缘开始出现。此时相卵母细胞变化最为显著,也分为早、中、晚三个时期描述。卵径 $82.7 \sim 533.3 \mu\text{m}$,核径 $21.3 \sim 80 \mu\text{m}$,核仁径 $6.7 \sim 8 \mu\text{m}$ 。

3时相早期,卵黄泡由胞膜内缘开始出现。卵母细胞明显增大,形状近圆形或椭圆形。细胞质淡染为浅红色。细胞核染色浅,核仁数较多,并多靠近核膜内缘。卵黄核仍然存在。卵径 $82.7 \sim 253.3 \mu\text{m}$,核径 $21.3 \sim 80 \mu\text{m}$,核仁径 $6.7 \sim 8 \mu\text{m}$ (图版I-5)。

3时相中期,此时期为卵黄泡充满时期。卵黄泡呈放射状聚集于胞核周围,靠近胞核的卵黄泡较大。卵黄泡中尚无卵黄物质的积累,细胞质染色为浅红色。细胞核位于中央,染色较深,且核膜周围变得凹凸不平,核仁数目很少。卵径 $106.7 \sim 266.7 \mu\text{m}$,核径 $66.7 \sim 80 \mu\text{m}$ (图版I-6)。

3时相晚期,卵黄泡聚集并变大,卵黄泡内开始有卵黄物质积累,卵黄物质呈团状并有由外围向中部聚集的趋势,中央的卵黄已开始连接成片。细胞核被卵黄物质及卵黄泡挤至卵细胞边缘。核仁数目较少。卵径 $245.3 \sim 533.3 \mu\text{m}$,核径 $53.3 \sim 74.7 \mu\text{m}$ 。

在第3时相,滤泡细胞变为双层,外层为扁平滤泡细胞,扁平细胞不连续包围于外层;内层为颗粒层细胞。颗粒层细胞形状为圆形或椭圆形,胞质染色淡,细胞核明显,核仁数目4~6,颜色深染,十分明显。颗粒细胞相互堆积呈舌状镶嵌入卵膜中,故称为镶嵌型滤泡。滤泡层细胞逐渐增大,数量逐渐增多,排列

也逐渐变得规则。在质膜与滤泡细胞间的放射带比较细,不很明显,其颜色被染为深红色。由于滤泡细胞的挤压,放射带亦变得凹凸不平(图版I-11,12)。

2.4 第4时相

卵母细胞中心被均匀的卵黄物质填充,又称为卵黄充满时相。卵母细胞体积增加较快,卵黄泡消失,细胞核移至边缘。卵径 $666.7 \sim 1226.7 \mu\text{m}$ (图版I-7)。

在第4时相,颗粒层细胞变为立方状,颜色深染,难以看清细胞核。滤泡层细胞排列变得不规则(图版I-13)。

2.5 第5时相

为成熟卵细胞时相。卵黄物质均匀散布,并被染为浅红色。卵细胞卵膜极薄,卵膜内缘散布有圆形的而不相连的脂滴数十粒。卵径 $693.3 \sim 1493.3 \mu\text{m}$ (图版I-8)。

在第5时相,随着卵母细胞的成熟,滤泡层细胞脱离卵细胞,滤泡细胞较大,排列很不规则,脱落的滤泡细胞将逐渐退化吸收。

2.6 第6时相

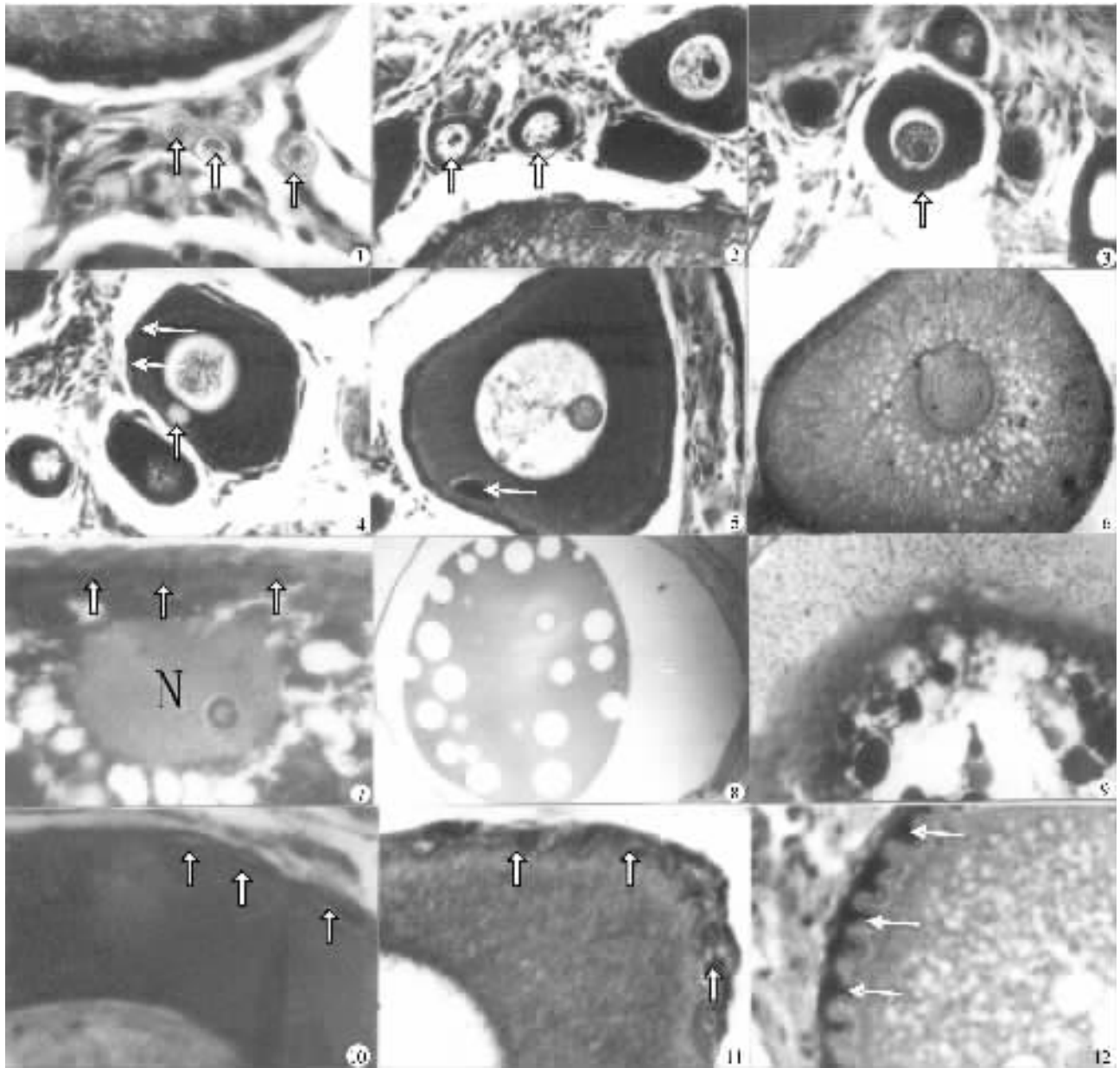
为退化吸收时相。其退化过程是周围的滤泡细胞从卵周向中央突入卵黄中分泌液化酶使卵黄液化,并将其吞噬,最终使卵黄被吸收完全而消失(图版I-9)。

在退化时相,脱落下来的滤泡细胞逐渐被消化吸收。对于没有受精而退化的卵细胞,其外层的滤泡细胞由外向内吞噬卵黄物质,吞噬后,其自身也变得肥大,形状为圆形或椭圆形,细胞质淡染,核质比小,细胞核位于中央,染色较深。

3 讨论

3.1 滤泡细胞与卵母细胞发育的关系

食蚊鱼卵巢滤泡细胞在第3时相时的镶嵌状排列方式较为特殊,在目前关于南方鲇^[5,6]、鲃鱼^[7]、卵胎生硬骨鱼褐菖鲢^[2]等鱼类的报道中,未发现类似的描述,在同样研究食蚊鱼性腺的文章^[3]中也未见相关描述。滤泡细胞既是外源物质进入卵母细胞的门户,其自身合成物质也可源源不断进入卵母细胞内。罗氏沼虾的滤泡细胞与初级卵母细胞之间的指状通道在卵黄形成后期变细,其转移物质的功能也停止^[8],山溪鲃的滤泡细胞合成类固醇的功能也有与卵黄合成期同步的趋势^[9],文昌鱼滤泡细胞与卵母细胞之间存在的间隙连接和桥粒^[10]均令人



图版 I 食蚊鱼卵子发生的组织结构图

1. 第1时相卵原细胞, $\times 320$
2. 第2时相早期卵母细胞, $\times 320$
3. 第2时相中期卵母细胞, $\times 320$
4. 第2时相晚期卵母细胞, 示卵黄核(\uparrow)和类生长环(\uparrow), $\times 320$
5. 第3时相早期卵母细胞, $\times 320$
6. 第3时相中期卵母细胞, $\times 160$
7. 第4时相晚期卵母细胞, 示细胞核(N)偏位, 滤泡细胞(\uparrow), $\times 320$
8. 第5时相卵细胞, $\times 32$
9. 第6时相退化卵细胞, $\times 32$
10. 第2时相中期的滤泡细胞, $\times 800$
11. 第3时相早期的镶嵌型滤泡细胞, $\times 800$
12. 第3时相中期的镶嵌型滤泡细胞, 示放射带被挤压成凹凸不平, $\times 320$

信服地说明了滤泡细胞向卵母细胞输入物质的重要功能。食蚊鱼的滤泡细胞在第3时相向卵母细胞卵膜镶嵌,此时正是卵母细胞大量堆积卵黄物质之时;到第4时相,滤泡细胞又逐渐趋于扁平,不再向卵母细胞镶嵌,而这时,卵母细胞正处于卵黄充满时相,不再需要卵黄的堆积。显然,食蚊鱼滤泡细胞的变化与卵黄物质的堆积是密切相关的。并且食蚊鱼的滤泡细胞与卵母细胞之间具有的透明滤泡腔,也说明如果滤泡细胞的确有向卵母细胞输入物质的功能,滤泡细胞的这种变化无疑是通过增大其接触的面积,强化了传递和输入物质的功能。因此,镶嵌型滤泡的发现为滤泡细胞具有传递和输入功能这个论断提供了组织学的佐证。

3.2 卵黄物质的积累

食蚊鱼的生殖周期为20~30d,繁殖期可产6~7胎仔鱼^[3]。食蚊鱼的卵具多油球,属多黄卵,据测量,其成熟卵子的卵径可达近1.5mm,而其成鱼体长仅25mm,显然,其卵体积大与之卵胎生的特性密切相关。而食蚊鱼要能如此快地积累如此多的卵黄物质,可见其积累卵黄的功能是十分强大的。同为卵胎生硬骨鱼类的褐菖鲈,卵径最大为390~450 μm ,也为多黄卵。在其第2时相晚期,没有卵黄核的出现,但在其细胞核的外周边的细胞质中出现不规则的块状或环状分布的强嗜碱性物质,使细胞质分层,称为生长环,有类似卵黄核的功能^[2]。食蚊鱼卵母细胞从第2时相晚期到第3时相早期均有卵黄核的出现,还在胞膜内缘具有类生长环。至于类生长环的来源,有人认为是由卵黄核迁移到卵周皮质中破碎分解而成的颗粒向皮质层两侧扩散形成的^[11],因而卵黄核及类生长环两类结构均与卵黄物质的积累有关^[7,12-13]。所以,食蚊鱼积累卵黄物质的高效率可能与这两种结构以及镶嵌状的滤泡细胞有关。

3.3 食蚊鱼卵子发生与其生殖方式的适应性

食蚊鱼卵子发生过程具有它独有的特点:1)具备镶嵌型颗粒细胞;2)第2时相晚期,不仅有卵黄核的出现,还有类生长环的出现;3)放射带不明显,卵膜薄。这些特点均与之卵胎生的生殖特性以及其体型等特点相关。食蚊鱼的体型小,产仔少,但它的繁殖速度却非常快。前两个特点使之能快速产仔,即

使在它每胎产仔相对较少的情况下,也能保证在其繁殖期内产较多的仔鱼。卵胎生的鱼从胚胎到仔鱼的过程中,在母鱼体内完成发育,仔鱼的成活率较卵生的鱼类高。关于最后一个特点,因为食蚊鱼是体内受精,所以不需较厚的卵膜包裹,因而卵膜较薄;并且较薄的卵膜有助于提高卵受精率。从以上特点可以看出,食蚊鱼的卵子发生特点是与其生殖方式高度适应的,是其在长期进化的过程中,不断适应环境的结果。

参考文献:

- [1] 成庆秦,郑葆珊. 中国鱼类系统检索[M]. 北京:科学出版社,1987.
- [2] 林丹军,尤永隆. 卵胎生硬骨鱼褐菖鲈卵巢的周期发育研究[J]. 动物学研究,2000,21(4):269-274.
- [3] 刘灼见,高书堂,邓青. 食蚊鱼的性腺发育及性周期研究[J]. 武汉大学学报(自),1996,42(4):488-493.
- [4] 上海水产学院. 组织胚胎学[M]. 北京:农业出版社,1981.
- [5] 张耀光,谢小军. 南方鲇的繁殖生物学研究性腺发育及周年变化[J]. 水生生物学报,1996,20(1):9-14.
- [6] 张耀光,谢小军. 南方鲇卵巢滤泡细胞和卵膜生成的组织学研究[J]. 动物学研究,1995,16(2):166-172.
- [7] 王汉平,魏开金,姚红,等. 养殖鲥鱼性腺发育的研究[J]. 动物学报,1998,44(3):314-321.
- [8] 姜乃澄,卢建平,袁保京. 罗氏沼虾初级卵母细胞在卵黄形成期超微结构的变化[J]. 东海海洋,2001,19(1):35-43.
- [9] 贾林芝,张育辉. 山溪鲮卵巢滤泡细胞的显微与超微结构[J]. 动物学研究,2000,21(5):419-421.
- [10] 方永强, U. 威尔士. 文昌鱼卵子发生中成熟分裂时卵母细胞的超微结构研究[J]. 动物学报,1996,42(4):355-360.
- [11] 何德奎,陈毅峰,陈自明,等. 色林错裸鲤性腺发育的组织学研究[J]. 水产学报,2001,25(2):97-102.
- [12] HUBBARD J. The Yolk Nucleus in *Cymatogaster aggregatus* Gibbons [J]. Proc Am Phil Soc, 1894, 33:74-83.
- [13] CHOPRA H C. Morphological and Histochemical Study of Oocytes of Fish *Barbus ticto* (Puntius), with Particular Reference to Lipids [J]. Res Bull Punjab Univ, 1958, 152:211-221.

Histological Studies of the Oogenesis of *Gambusia affinis*

WANG Zhi-jian , LUO Hong , ZHANG Yao-guang

(School of Life Science ; Key Laboratory of Aquatic Science of Chongqing ; Key Laboratory of

Ministry of Education of Eco-environments in Three Gorges Reservoir Region , Southwest University , Chongqing 400715 , China)

Abstract :The oogenesis of *Gambusia affinis* is divided into 6 phases. In the first phase , the oogonium has little cytoplasm and bigger nuclear-cytoplasmic ratio. In phase 2 , the volume of oocytes increases rapidly while the nuclear-cytoplasmic ratio decreases obviously , the cytoplasm is in a strong basophilia state , and the follicular cell starts to appear. To the late stage of this phase , yolk nucleus and mimetic growth circle which both would be relate to the formation of yolk matters appears. In the third phase , the basophilia of the oocytes gets weaker , and yolk bubble which the cytoplasm is gradually filled with is first seen in the inner edge of the membrane. Follicular cells which pile up as a tougue in the granular layer come to insert into egg membrane , and make the zona radiata undulate. This kind is called inlayed-follicle. In phase 4 , the increase of oocyte volume gets sooner , the yolk bubble disappears , and cytoplasm is gradually filled with yolk and with nucleus moving to age. In phase 5 , the follicular cells fall off and the eggs mature with characters of very thin membrane and well-distributed yolk. In phase 6 , unfertilized eggs and follicular cells degenerate gradually and are absorbed at last.

Key words *Gambusia affinis* ; oogenesis ; histology ; inlayed-follicle ; source and accumulation of yolk

(责任编辑 李若溪)
