

短盖巨脂鲤卵巢发育组织学研究

李懋 黄二春 魏于生 万松良 陈里

(湖北省水产科学研究所, 武汉, 430071)

提要

通过对短盖巨脂鲤各个生长期卵巢组织学研究以及成熟卵超微结构观察, 获得短盖巨脂鲤生长发育过程中卵巢发育规律; 同时对卵母细胞核仁排出物与核质关系及在卵黄形成中的作用等问题作了初步探讨; 并根据卵巢的卵母细胞组成确定了其产卵类型。

关键词 短盖巨脂鲤, 卵巢发育, 卵子, 产卵类型

短盖巨脂鲤 (*Colossoma brachypomum* Cuvier), 俗名淡水白鲳, 原产于南美亚马逊河流域, 是热带和亚热带食用和观赏兼备的大型热带鱼类。它具有食性广、生长快、抗病力强、易捕捞等特点, 南美洲各国已经作为养殖对象。1982年被我国台湾省引进养殖后认为是可养殖的良好的食用鱼^[1]。1985年以来短盖巨脂鲤先后被引进到大陆各地, 经过科研部门的试养与推广, 已被广大养殖户和消费者所认识, 取得了较好的经济和社会效益^[2—5]。叶盛钟等^[6]解剖其性成熟亲鱼性腺时, 发现其IV期卵巢中除IV时相卵母细胞外, 还有大量II、III时相卵母细胞, 认为短盖巨脂鲤为分批产卵鱼类。该鱼类性腺发育规律尚未见报道, 而生产中短盖巨脂鲤的受精率和孵化率远低于“四大家鱼”, 因此, 作者对其性腺发育规律和产卵类型进行研究, 将有助于亲鱼培育和提高受精率及孵化率, 为短盖巨脂鲤亲鱼人工繁殖工作提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料来源

一部分取自蒲圻市水产良种场和武汉市青山热电厂渔场; 另一部分取自本所养鱼池(表1)。

1.2 材料处理与观察

用于光学显微镜观察的卵巢组织块用Bouin氏液固定24h后, 保存于70%乙醇中; 石蜡包埋, 加片厚度8μm; 埃利氏苏木精-伊红(H·E)染色。对全部切片进行组织学观察, 对其卵母细胞及核仁大小进行显微摄影和显微测量。采用我国学者并参考苏联学者Мейен的标准, 即以卵母细胞形态、原生质和营养物质积累状况为主要依据^[7]将卵子发生划分为

表1 短盖巨脂鲤不同生长时期卵巢卵母细胞组成

Tab. 1 Oocyte of the ovary of *Collossoma brachypomum* in different growing period

五时相,卵巢发育分为六期。用于电镜观察材料,用2.5%戊二醛和1%锇酸双固定,进行电镜制片程序处理后观察并摄影。

2 结果

2.1 卵母细胞生长发育过程时相的划分

I时相 也称为卵原细胞增殖期,由生殖上皮细胞分生而来的卵原细胞,大小不一,成群地分布在卵巢基质中,细胞体积小,形态为圆形或椭圆形,卵径14.35—26.57 μm ,胞质浅紫色,核圆形,占细胞1/2左右,核径7.45—16.79 μm ,在正中切面上有1—4个染色深的核仁(Nucleolus)(图版I:1)。

II时相 卵母细胞排列整齐,呈多角形、圆形、椭圆形等。在II时相卵母细胞发育过程中,其卵径从21.3 μm 增加到255.3 μm ,核径从15.96 μm 增加到106.4 μm ,核中染色体逐渐解体,但仍可观察到细丝状残迹,核仁增加,正中切面上有11—27个大小不等的核仁,一般居于核膜内侧。细胞质呈强嗜碱性,被H·E染成深紫色,在卵母细胞之间有结缔组织和血管分布。早期II时相卵母细胞中可见一个被染成深蓝色的团块状结构称为卵黄核(Yolk Nucleus)(图版I:2);晚期II时相卵母细胞外面有一薄层滤泡细胞,其核不易被发现;在核周围出现一层绕核的透明层(Transparent layer),以原生质膜同细胞质分开(图版I:3);此时细胞质染色较早期浅,胞径与核径相对增大,卵黄核消失。II时相后期卵母细胞中核仁物质开始进入细胞质中,相当部分核膜不完整,有局部溶解、破裂、穿孔等现象(图版I:4)。

III时相 此时卵母细胞系圆形或椭圆形,在III时相卵母细胞发育过程中,卵径从273.7 μm 增加到422.1 μm ,核大而圆,核径从95.7 μm 增加到242.0 μm ;正中切面上可见25—49个核仁。早期III时相卵母细胞内还有核仁外排现象,细胞质中出现蓝紫色的颗粒,并逐渐增多。近卵膜处出现一层大小不等的液泡,以后随卵母细胞生长,其数目从一层增到数层,在液泡中不均匀地分布着被H·E染成蓝色的颗粒称为卵黄泡(Yolk vesicles),III时相晚期细胞内充满蓝色的颗粒;同时在近核膜处的细胞质中首先出现一些被H·E染成紫红色的卵黄颗粒称为卵黄球(Yolk globule),以后卵黄球逐渐增多,到V时相充满整个卵细胞,卵膜外形成一层被H·E染成浅红色的膜称为放射膜(Radical membrane)(图版I:5)。

IV时相 此时相卵母细胞由于卵黄颗粒的急剧增加,个体也迅速增大,按照细胞大小及形态变化,可将其分为早、中、晚三期。早期卵径从421.1 μm 增加到473.3 μm ,核周围尚有一层呈弱碱性的细胞质,胞质中还有一些液泡,细胞核位于细胞中央,核径178.9—273.8 μm ,核膜呈波纹状,在正中切面上有0—68个核仁;放射层增厚(图版I:6);中期卵径494.7—684.2 μm ;卵黄颗粒充满细胞质,并有少量颗粒结成块状,细胞核处于中央或略有偏转,核径137.0—284.2 μm ,核膜明显呈波纹状,正中切面上达100多个核仁,核内有蓝色颗粒物质;晚期卵母细胞基本成熟,卵径达663.2—1084.2 μm ,卵黄颗粒结成块状,核径达231.6—315.8 μm ,核膜仍呈波纹状,核仁逐渐消失,核逐渐边移,出现明显地极化现象。没有消失的核仁多集中在靠动物极的核仁区,整个卵母细胞极性化完成。同时动物极端切面上可以观察到一个漏斗状的凹陷称为受精孔(Micropyle),此处由放射膜,卵膜连同滤泡

膜一起凹陷而成(图版 II: 7)。

V 时相 卵母细胞核已移至动物极附近, 接近受精孔, 核膜消失, 仅见一团核质, 有时可见浓缩的染色质, 滤泡膜与脱离卵(图版 II: 10)。

2.2 短盖巨脂鲤卵巢的卵母细胞组成及分期

短盖巨脂鲤属于引进的热带鱼类, 其生活温度范围 12—35℃, 适宜生长温度 21—32℃, 繁殖最适宜温度 25—28℃。在我国大部分天然水域中不能形成自然繁殖群体, 其亲鱼的培育和繁殖必须在温泉等越冬处进行。由于客观条件的限制, 所取材料都是同批繁殖的群体, 其性腺发育基本上一致。雌性短盖巨脂鲤有卵巢一对, 对称位于鳔下方两侧, 二龄以前呈乳白色线状, 被大块脂肪所包围不易辨别; 成熟卵巢呈黄绿色。根据其卵母细胞组成(表 1), 将短盖巨脂鲤其卵巢发育分为 6 个时期。即二夏龄以前的短盖巨脂鲤卵巢为 I 期(图版 I: 1); 二冬龄卵巢进入 II 期, 此期一直持续到三冬龄前(图版 II: 8); III 期卵巢持续时间比较短, 在水温适宜, 饲料充足等外界因素作用下, 很快进入 IV 期(图版 I: 5), IV 期卵巢主要由 IV 时相卵母细胞组成, 同时 II 时相卵母细胞占整个切片面积的 1/4 左右, 有时也可发现 III 时相卵母细胞, 但大多处于 III 时相中晚期(图版 II: 9); 第 V 期卵巢中可见到核已靠近动物极的卵细胞占切片面积 90% 以上, 同时还有部分 II、IV 时相的卵母细胞(图版 II: 10); 第 VI 期卵巢为亲鱼产后或自然退化的卵巢, 此期卵巢中除可见退化的 V 时相卵母细胞(切片面积占 80% 左右)外, 还有大量的 II、III、IV 时相卵母细胞(图版 II: 11)。

2.3 成熟卵的超微结构

2.3.1 卵膜结构 光镜观察(图版 I、II: 5、6、7)和电镜观察(图版 II: 12)短盖巨脂鲤成熟卵膜为三层膜组成(由外向内): 鞘膜(Chorion)、放射膜和卵黄膜(Vitelline membrane)。鞘膜层是一层中等电子密度的物质, 厚度 0.5μm, 其上分布着许多小孔与放射膜小孔相通; 放射膜又称基膜、包膜、透明带, 是一层电子密度很大的物质构成, 厚度 4.3μm, 其放射膜上呈辐射状排列整齐的通道从切面上清晰可见, 直径约 0.3μm; 卵黄膜是一层电子密度较低的物质, 厚度极不均匀, 紧密包围着细胞质及卵黄(图版 II: 12)。

2.3.2 内部结构 成熟卵细胞内含有丰富的线粒体(Mitochondrion), 其形态有棒状和椭圆形两种(图版 II: 13), 也含有许多光滑膜性小泡(Smooth membrane vacuole)(图版 II: 13、14)和粗面内质网(Rough endoplasmic reticulum)。没有发现高尔基体和微管系统, 只有一种卵黄物质, 以大小两种形态充塞整个卵细胞, 其基质致密(图版 II: 14)。

3 讨 论

3.1 短盖巨脂鲤卵巢发育

短盖巨脂鲤属于热带鱼类, 从其卵巢发育过程和养殖实践, 证明其性腺发育成熟年龄为 3 龄以上, 体重在 4kg 左右。据卵母细胞发育时相和卵巢时期的资料, 短盖巨脂鲤在二夏龄以前卵巢一直处于 I 期, 进入越冬的二龄鱼卵巢大部分进入 II 期, 体重在 1kg 以上, 此期持续到三夏龄以后; III 期卵巢经历时期比较短, 在适宜水温、充足饵料等外部因素作用下, 2—3 个月甚至更短时间便进入 IV 期, 此期短盖巨脂鲤摄食活动力强, 生长较快。在 IV、V 期卵巢切面上主要是 IV、V 时相卵母细胞, 同时也存在相当部分的 II 时相卵母细胞,

很少出现 III 时相卵母细胞(图版 II: 9、10), 产后亲鱼的 VI 期卵巢除退化 V 时相卵母细胞外, 主要是 II、III 时相卵母细胞。由此可知, 在生产中对该鱼亲鱼提前进行强化培育, 并利用激素催熟使亲鱼提前产卵繁殖^[2]¹⁾是有其物质基础的。从养殖角度分析, 短盖巨脂鲤养殖到二龄时, 大部分个体达到 1kg, 性腺发育刚刚进入 II 期, 是捕捞的最佳时期。如果继续养殖, 其摄取的饲料除用于生长外, 将有大部分用于其性腺发育。

3.2 卵膜结构及其生理功能

根据资料^[8,9], 鱼类卵膜结构有很大差异, 其结构从五层到两层不等, 而厚度也不同, 漂性卵卵膜薄, 卵周隙大; 沉性卵卵膜厚, 卵周隙小, 表现出结构与环境相适应的特点。短盖巨脂鲤卵为半沉性卵, 成熟卵径 1.06—1.11mm, 膜厚度 5.5μm, 卵膜结构在 III 时相便形成(图版 I: 5)。在电镜照片上鞘膜、放射膜上明显地观察到排列整齐的细微管道, 它是卵细胞和外界物质交换的通道; 卵黄膜的厚薄不均, 此层膜上似乎有些“泵”结构负责卵细胞与周围进行有选择地物质交换。此外当鞘膜接触水时便迅速吸水膨胀使卵具有一定的浮性。在 IV、V 时相的卵细胞近动物极处有一凹陷区域, 即受精孔(图版 II: 7), 和其它鱼类一样, 短盖巨脂鲤卵子受精孔处原生质丰富, 物质交换十分活跃, 卵核物质位于附近, 是精子入卵的唯一通道^[10]。

3.3 核仁排出物与核质关系及在卵黄形成中的作用

核仁是卵核的主要成份, 在整个卵子发生、生长、成熟过程中, 核仁有很大的变化, 其数目从少到多(II 时相到 III、IV 时相), 又由多变少(IV 时相到 V 时相), 直到消失。关于核仁排出物有许多报道^[7-9], 一般认为核仁排出物参与卵黄的形成^[9], 核仁排出物和卵黄形成的时间上有某些联系, 但尚缺乏直接证据。在 II 时相早期卵母细胞质内出现一个着色较深的颗粒称之为卵黄核(图版 I: 2)。有人认为在卵母细胞形成过程中, 卵黄核是形成细胞器的中心^[8,11], 也有人认为卵黄核中线粒体等分散到周围细胞质中, 这些线粒体可能就是卵黄的前身物质^[9], 电镜观察发现卵母细胞中有丰富的线粒体(图版 II: 13、14)。但是, 从卵黄核的出现和核仁排出物的时间顺序上存在有差异, 对它们之间的关系有待于进一步研究。关于卵母细胞中核仁排出物在营养物质积累过程中的作用, 有人认为核仁排出物进入胞质中便失去其可染色性而溶解到细胞质中, 它们在卵黄形成中可以直接转成蛋白质卵黄^[12]。即核仁排出物是在 II 时相开始, 卵黄形成是在 III 时相开始, 从中可以说明它们之间的某些联系。

3.4 产卵类型

鱼类生殖是周期性的活动。根据卵母细胞在卵巢中的发育形态, 可以区分为三种类型^[8]: 完全同步型, 卵巢中含全部卵母细胞都在同一发育时期, 如大麻哈鱼, 鳗鲡等; 分批同步型, 卵巢中至少有两群不同发育时相的卵母细胞, 这些鱼在一年中只产一次卵, 产卵季节短促, 如青、草、鲢、鳙等鱼类; 分批非同步型, 卵巢中有各种不同发育时相卵母细胞, 这些类型鱼类在一个延长时间的产卵季节中多次分批产卵, 如鲤、鲫、非鲫等。在短盖巨脂鲤各个不同发育时期卵巢中, 其卵母细胞组成特点是 II 时相卵母细胞在各个时期卵巢中都清晰可见。在 IV、V、VI 期卵巢中难以或很少发现 III 时相卵母细胞, 这可能与 III 时相

1) 黄二春等。淡水白鲳提前繁殖技术研究。湖北渔业, 1991, 2: 25—28.

卵母细胞所经历时间较短有关。在生产实践中,张中英¹⁾报道广东省短盖巨脂鲤在第一次产卵后经过50天培育可进行第二次产卵;近两年由于对短盖巨脂鲤卵巢发育规律的了解,第一次人工繁殖过的亲鱼经过30—40天的人工强化培育可进行第二次人工催产繁殖,其产卵率、受精率、孵化率与第一次没有明显的区别。从卵巢发育的组织学特征和生产实践证明,短盖巨脂鲤在人工强化培育的环境中,使其性腺一直处于生长发育过程中,由于III期卵巢发育所经历时间较短、一年中可以多次繁殖,其产卵类型应确定为分批非同步型。

参 考 文 献

- [1] 林森津。淡水白鲳简介。养鱼世界,1985,(5): 32—33.
- [2] 姜仁良等。淡水白鲳人工繁殖的调控。水产学报,1994, 18(4): 278—283.
- [3] 张中英等。淡水白鲳的生物学和人工繁殖研究。淡水白鲳,1991, (4): 3—6.
- [4] Castagnolli N et al. Induced ovulation and rearing of the pacu (*Colossoma macropomum*). *Aquaculture*, 1981, 25: 275—279
- [5] Godinho H P, et al. Induced spawning of the pacu, *Colossoma macropomum* (Berg 1895), by hypopituitary extract. *Aquaculture*, 1986, 55: 69—73
- [6] 叶盛钟等。淡水白鲳的催产与孵化。水产科技情报,1989, 16(5): 130—133.
- [7] 上海水产学院。组织胚胎学。北京:农业出版社,1964, 158—162; 207—211.
- [8] 龚启祥等。香鱼卵巢发育组织学研究。水产学报,1982, 6(3): 221—234
- [9] 施璇芳。鱼类生理学进展。科学进展,1987, (6): 64—83
- [10] Brumme A R, et al. Initial stages of sperm penetration into the egg of *Fundulus heteroclitus*. *J. exp. zool.*, 1979, 210(3): 417—433
- [11] 刘 笛。中国养殖鱼类繁殖生理学。北京:农业出版社,1993: 20—32
- [12] Raven C. P. 卵子发生的卵核,卵子发生(李汝祺、张宗炳译)。北京:科学出版社,1961: 41—70.

1) 中国水产科学院长江水产所,1988,短盖巨脂鲤材料汇编(生物学和人工繁殖部分)。

HISTOLOGICAL STUDIES ON THE DEVELOPMENT OF OVARY OF *COLOSSOMA BRACHYPOUM*

Li Mao, Huang Erchun, Wei Yusheng, Wan Songliang and Chen Li

(*Hubei Fisheries Research Institute, Wuhan, 430071*)

Abstract

The development of the ovary and the electronic microscopy of the structure of mature ovum of the fish, *Colossoma brachypomum* Cuvier were studied. The ovary in those fish under two-year old remains at Stage I, and at Stage II for those fish between 2 and 3 years old. The female fish reaches sexual maturity above three years old. During Stages IV, V, VI, the oocytes are mainly in phases 4 and 5 with a few in phases 2 and 3. It is evident that the oocyte development of the fish is continuous and the reproduction of the females may be manipulated artificially many times within a year. The changes in the structure of oocytes during the development were also examined. It is further suggested that *C. brachypomum* belongs to the type of poly-spawning fish.

Key words *Colossoma brachypomum*, Ovary development, Oocyte, Spawning type.